

Caroline Cavali Rohenkohl

**IMPACTO DA SUPLEMENTAÇÃO ORAL COM ÓLEO DE
PEIXE SOBRE ESTADO NUTRICIONAL, CARBONILAÇÃO
PROTEICA E MARCADORES DE LESÃO CELULAR
PLASMÁTICOS DE INDIVÍDUOS COM NEOPLASIAS
HEMATOLÓGICAS EM TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO**

Dissertação de mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Nutrição do Centro de Ciências da
saúde da Universidade Federal de
Santa Catarina em cumprimento a
requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Nutrição, linha de
pesquisa Estudo dietético e bioquímico
relacionado com estado nutricional,
sob a orientação do professor doutor
Everson Araújo Nunes.

Florianópolis
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Rohenkohl, Caroline Cavali

IMPACTO DA SUPLEMENTAÇÃO ORAL COM ÓLEO DE PEIXE SOBRE
ESTADO NUTRICIONAL, CARBONILAÇÃO PROTEICA E MARCADORES DE
LESÃO CELULAR PLASMÁTICOS DE INDIVÍDUOS COM NEOPLASIAS
HEMATOLÓGICAS EM TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO / Caroline
Cavali Rohenkohl ; orientador, Everson Araújo Nunes -
Florianópolis, SC, 2015.

127 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós
Graduação em Nutrição.

Inclui referências

1. Nutrição. 2. Neoplasias hematológicas. 3. Suplementação
com óleo de peixe. 4. Estado nutricional. 5. Estresse
oxidativo. I. Nunes, Everson Araújo. II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Nutrição. III. Título.

**IMPACTO DA SUPLEMENTAÇÃO ORAL COM ÓLEO DE
PEIXE SOBRE ESTADO NUTRICIONAL, CARBONILAÇÃO
PROTEICA E MARCADORES DE LESÃO CELULAR
PLASMÁTICOS DE INDIVÍDUOS COM NEOPLASIAS
HEMATOLÓGICAS EM TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Nutrição”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 15 de julho de 2015.

Prof.^a Rossana Pacheco da Costa, Dr.^a,
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Everson Araújo Nunes, Dr.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Edson Luiz da Silva, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Francilene Gracieli Kunradi Vieira, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Tania Beatriz Creczynski Pasa, Dr.^a
Universidade Federal de Santa Catarina

*Dedico essa dissertação aos meus pais, os quais são a minha base,
minha felicidade, minha tranquilidade e minha inspiração para crescer
e querer ser melhor a cada dia.*

AGRADECIMENTOS

Dois anos que passaram rapidamente, porém intensos, com grande amadurecimento profissional e pessoal. Só tenho a agradecer a cada um que, de alguma forma, esteve envolvido comigo neste tempo.

Agradeço a Deus e aos meus anjos “especiais” por terem caminhado comigo até aqui, sempre ao meu lado me ouvindo e me iluminando, me fazendo acreditar que era possível.

Agradeço aos meus pais Rosa e Anibaldo por me proporcionarem mais uma oportunidade na vida e por NUNCA medirem esforços para me atender. Sou infinitamente grata a vocês que são pais exemplares em dar educação, amor e segurança. Obrigada pelos valores que me transmitiram, por sempre me incentivarem e pelos abraços que me seguraram mesmo de longe. Só sou quem sou e estou onde estou por causa de vocês. Espero um dia poder retribuir à altura que vocês merecem. Palavras não representam o imenso amor e orgulho que sinto por vocês! Agradeço também a toda minha família e a todos os meus amigos por sempre estarem presentes me dando suporte emocional, incentivo e alegrias!

Agradeço ao PPGN e todos os seus professores pelos ensinamentos e oportunidade de crescimento. Agradeço o mesmo ao meu orientador Everson A. Nunes. Muito obrigada por toda dedicação, preocupação, paciência, confiança e tempo investido em mim. Sempre me lembrarei do seu exemplo profissional.

Agradeço a todos os colegas do Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas - LIDoC (Amanda, Carol, Cris, Fran, Henver, Katia, Lu, Paola, Pri, Thayz) pelos ensinamentos, conselhos, ajudas e as “mãos” nos experimentos. Além disso, faço agradecimentos especiais às amigas Katia e Lu por sempre estarem presentes e Amanda por ter me recebido e me acolhido no laboratório com paciência e disposição para ajudar desde o primeiro dia.

Agradeço à minha turma de mestrado por compartilhar desses dois anos de amadurecimento e aprendizagem.

Agradeço aos professores Edson Luiz da Silva, Dr., Erasmo B. S. de Moraes Trindade, Dr., Francilene Kunradi Vieira, Dr^a. e Tania Beatriz C. Pasa, Dr^a, por terem gentilmente aceitado participar da banca, compartilhando deste importante momento.

MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS A TODOS!

“A vitória mais importante a ser conquistada é a vitória sobre si mesmo.”

(Carlos Hilsdorf)

RESUMO

Neoplasias hematológicas é um grupo de doenças malignas representadas principalmente por leucemias e linfomas. O tratamento destas neoplasias inclui, entre outras abordagens, quimioterapia. Os indivíduos acometidos poderão sofrer efeitos colaterais em decorrência do tratamento, assim como da progressão da doença. A possível modulação dos ácidos graxos poli-insaturados n-3 (AGPI n-3) eicosapentaenoico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), presentes no óleo de peixe, sobre a melhora ou manutenção do estado nutricional e sobre maior eficácia da quimioterapia nestes indivíduos, sugere a suplementação deste óleo como adjuvante ao tratamento do câncer. Neste contexto, este ensaio clínico controlado e randomizado objetivou avaliar o impacto da suplementação com óleo de peixe sobre estado nutricional e parâmetros de estresse oxidativo em indivíduos com neoplasia hematológica durante tratamento quimioterápico. Quatorze indivíduos com diagnóstico recente de leucemias ou linfomas atendidos no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago (HU), orientados a quimioterapia foram randomizados em grupo não suplementado (GNS) (n=9) e grupo suplementado (GS) com 2g/dia de óleo de peixe (n=5) durante nove semanas. Para comparar os efeitos da intervenção no momento inicial (T0) e final (T1) foram utilizados os testes de Mann-Whitney (análise intergrupos) e de Wilcoxon (análise intragrupos). Teste Qui² Exato de Fisher foi utilizado para testar diferenças de variáveis dicotômicas de caracterização. Para todas as variáveis contínuas foram testadas a simetria pelo teste de Shapiro Wilk, assumindo um $p < 0,05$. Foram avaliados carbonilação proteica no plasma, atividade enzimática dos marcadores de lesão celular plasmáticos creatina cinase (CK) e lactato desidrogenase (LDH), parâmetros hematológicos, dados antropométricos, concentrações séricas de proteína C-reativa e albumina. Os dados de cromatografia líquida mostraram que com 367 mg de EPA e 243 mg de DHA houve aumento de 2,5 vezes de EPA e 1,9 vezes de DHA no GS e 100% dos indivíduos apresentaram proporções aumentadas destes AGPI. Embora sem significância estatística, foi possível observar que 80% dos indivíduos do GS apresentaram proporções aumentadas de proteínas carboniladas após as 9 semanas. Enquanto que no GNS, 55,5% apresentaram este aumento (GS-T0 4,3 [0,9; 6,3]; GS-T1 6,6 [2,2; 7,3] vs GNS-T0 6,4 [1,0; 8,3]; GNS T1 3,7 [1,4; 10,6]). Segundo adequação da CMB os indivíduos do GS mantiveram-se eutróficos e pôde ser observada tendência ($p=0,06$) ao incremento sugerindo uma

melhora/manutenção do estado nutricional (GS-T0 90,1[80,0; 104,4]; GS-T1 93,0 [86,5; 107,6] vs GNS T0 89,6 [76,4; 96,9]; GNS T1 84,0 [78,2; 98,7]). Com base na relação PCR/albumina o GNS estava classificado como alto risco de complicações e passou a ser classificado como médio risco no momento final. Enquanto que o GS passou de alto risco para baixo risco após a suplementação (GNS-T0: 3,9 [1,2 ; 27,8]; GNS-T1: 1,3 [0,9 ; 18,5] vs GS-T0: 12,6 [2,2 ; 24,0]; GS-T1: 0,9 [0,8; 12,3]). Conclui-se que a suplementação de óleo de peixe no binômio dose-tempo utilizado, não apresentou efeitos significativos sobre os parâmetros de estresse oxidativo e estado nutricional dos indivíduos. Porém, puderam ser observadas pequenas alterações que contribuem com o conhecimento existente para futuros estudos.

Palavras-chave: neoplasias hematológicas, óleo de peixe, estado nutricional, estresse oxidativo.

ABSTRACT

Hematologic malignancies is a group of malignancies mainly represented by lymphomas and leukemias. The treatment of these tumors include, among other approaches, chemotherapy. Affected individuals may suffer side effects arising from treatment as well as disease progression. The possible modulation of polyunsaturated fatty acids of the n-3 (n-3 PUFA) eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) acids, present in fish oil on the improvement or maintenance of nutritional status and about greater effectiveness of chemotherapy in these patients suggests supplementing this oil as an adjunct to cancer treatment. In this context, this randomized controlled clinical trial aimed at evaluating the impact of supplementation with fish oil on nutritional status and oxidative stress parameters in patients with hematologic malignancy during chemotherapy. Fourteen individuals with newly diagnosed leukemia or lymphoma treated at the University Hospital Professor Polydoro de São Thiago Ernani (HU), directed chemotherapy were randomized to unsupplemented group (GNS) (n = 9) and supplemented group (GS) with 2 g / day fish oil (n = 5) for nine weeks. To compare the effects of intervention at baseline (T0) and the end (T1) the Mann-Whitney tests were used (intergroup analysis) and Wilcoxon (intragroup analysis). Fisher's exact test Qui2 was used to test differences in dichotomous variables of characterization. For all continuous variables were tested symmetry by Shapiro Wilk test, assuming a $p < 0.05$. They were evaluated in plasma protein carbonyls, enzyme activity in plasma cell injury markers creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH), hematological parameters, anthropometric data, serum concentrations of C-reactive protein and albumin. The data of liquid chromatography showed that 367 mg of EPA and 243 mg DHA increased by 2.5 times and 1.9 times of EPA to DHA in the GS and 100% of subjects had increased proportions of PUFAs. Although not statistically significant, it was observed that 80% of the subjects had increased GS proportions of protein carbonyls after 9 weeks. While in GNS, 55.5% showed this increase (GS-T0 4.3 [0.9, 6.3]; GS-T1 6.6 [2.2, 7.3] vs GNS-T0 6, 4 [1.0, 8.3]; T1 GNS 3.7 [1.4, 10.6]). According adequacy of the CMB GS individuals remained normal and could be observed trend ($p = 0.06$) increased suggesting an improvement / maintenance of nutritional status (GS-T0 90.1 [80.0; 104.4] ; GS-T1 93.0 [86.5; 107.6] GNS T0 vs 89.6 [76.4; 96.9]; GNS T1 84.0 [78.2; 98.7]). Based on the ratio PCR / albumin GNS was ranked as high risk of complications and is now classified as medium risk in the

final moment. While the GS went from high risk to low risk after supplementation (GNS-T0: 3.9 [1.2; 27.8]; GNS-T1: 1.3 [0.9, 18.5] vs GS -T0: 12.6 [2.2; 24.0]; GS-T1: 0.9 [0.8; 12.3]). It is concluded that fish oil supplementation in dose-time binomial used, had no significant effect on the parameters of oxidative stress and nutritional status of individuals. However, it was observed small changes that contribute to the existing knowledge for future studies.

Keywords: hematological malignancies, fish oil, nutritional status, oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Exemplos de processos de formação de grupos carbonila por oxidação de aminoácidos	42
Figura 2	Estrutura dos ácidos graxos das famílias n-3, n-6 e n-9	46
Figura 3	Esquema da via de biosíntese dos ácidos graxos das famílias n-3 e n-6	47
Figura 4	Esquema da síntese dos eicosanóides derivados de AA	48
Figura 5	Esquema da síntese de eicosanoides derivados de EPA e DHA	49
Figura 6	Possíveis mecanismos envolvidos na relação dos AGPI n-3 e câncer	53
Figura 7	Delineamento do estudo	64
Figura 8	Fluxograma do recrutamento dos indivíduos participantes do estudo	74
Figura 9	Percentual dos ácidos graxos Eicosapentaenoico e Docosahexaenoico presentes no plasma dos indivíduos participantes do estudo	76
Figura 10	Quantificação da concentração de Proteínas carboniladas (nmol/mg)	78
Figura 11	Atividade enzimática da Desidrogenase láctica....	79
Figura 12	Atividade enzimática da Creatina cinase (U/L)	80

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Estudos <i>in vitro</i> relacionados à suplementação de AGPI EPA e DHA em linhagens de células leucêmicas	54
Quadro 2	Percentual de aumento ou redução de cada indivíduo por parâmetro após 9 semanas de tratamento quimioterápico e suplementação com 2 g/dia de óleo de peixe	86
Quadro 3	Percentual de aumento ou redução de cada indivíduo por parâmetro após 9 semanas de tratamento quimioterápico	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Informação nutricional das cápsulas de óleo de peixe	65
Tabela 2	Caracterização dos pacientes com neoplasias hematológicas em quimioterapia, antes e depois de suplementação oral com óleo de peixe	75
Tabela 3	Percentual (%) de ácidos graxos plasmáticos dos indivíduos participantes do estudo	77
Tabela 4	Parâmetros hematológicos dos indivíduos participantes do estudo	82
Tabela 5	Indicadores do estado nutricional dos indivíduos participantes do estudo	83

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA – Ácido araquidônico
AGPI – Ácido graxo poli-insaturado
ALA – Ácido alfa linolênico
CB – Circunferência do braço
CMB – Circunferência muscular do braço
CK – Creatina cinase
COX – Enzima cicloxigenase
COX1 - Enzima cicloxigenase 1
COX2 – Enzima cicloxigenase 2
DCT – Dobra cutânea tricipital
DHA – Ácido
DIP – 2,6 diisopropilfenil-docosaheptaenoamide
DNA – Ácido desoxirribonucleico
EPA – Ácido eicosapentaenoico
ERN – Espécie reativa de nitrogênio
ERO – Espécie reativa de oxigênio
FAB – French-American-British Classification (Grupo Cooperativo Francês, Americano e Britânico)
GLA – Ácido gama linolênico
GNS – Grupo não suplementado
GS – Grupo suplementado
HClO – Ácido hipocloroso
HNO₂ – Ácido nitroso
HO[•] - Radical hidroxila
HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Performance
H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio
IFN- γ - Interferon gama
IL – Interleucina
IMC – Índice de Massa Corporal
INCA – Instituto Nacional do Câncer
IPIN – Índice de Prognóstico Inflamatório Nutricional
LA – Ácido linoleico
LDH – Lactato desidrogenase
LLA – Leucemia linfocítica aguda
LLC – Leucemia linfocítica crônica
LH – Linfoma de Hodgkin
LMA – Leucemia mielóide aguda
LMC – Leucemia mielóide crônica
LNH – Linfoma não-Hodgkin

LOO[•] - Peroxila
LO[•] - Alcoxila
LOX – Enzima lipoxigenase
LT – Leucotrieno
n-3 – Ômega 3
n-6 – Ômega 6
NAPH - Sistema enzimático nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato-oxidase
NF-kB – *Nuclear Factor Kappa B* (Fator de transcrição nuclear Kappa B)
NO[•] - Óxido nítrico
NO₂⁻ - Nitritos
NO₃⁻ - Nitratos
NRI – *Nutritional Risk Index* (Índice de Risco Nutricional)
N₂O₃ – Óxido nitroso
OMS – Organização mundial de saúde
ONOO⁻ - Peroxinitritos
O₂^{•-} - Radical Superóxido
O₂ - Oxigênio
PCR – Proteína C-reativa
PG – Prostaglandina
PGE2 – Prostaglandina E2
PPAR_γ - *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors* (Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gamma)
TGF – *Transforming Growth Factor* (Fator de crescimento transformador)
TNF – *Tumor necrosis factor* (Fator de necrose tumoral)
TX – Tromboxano
WHO – *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	25
2	REVISÃO DE LITERATURA	29
2.1	NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS	29
2.1.1	Leucemias	29
2.1.2	Linfomas	32
2.2	ESTADO NUTRICIONAL NAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS	33
2.2.1	Avaliação do estado nutricional e proteínas de fase aguda	35
2.3	RELAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO E CÂNCER	37
2.3.1	Carbonilação proteica	40
2.3.2	Marcadores de lesão celular plasmáticos	43
2.4	ÓLEO DE PEIXE E ÁCIDOS GRAXOS POLI- INSATURADOS	45
2.4.1	Ácidos graxos poli-insaturados	45
2.4.2	Consumo e incorporação dos ácidos graxos poli- insaturados na membrana celular	49
2.4.3	Implicações dos AGPI n-3 sobre estado nutricional e estresse oxidativo durante câncer .	51
3	OBJETIVOS	59
3.1	OBJETIVO GERAL	59
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	59
4	MATERIAIS E MÉTODOS	61
4.1	INSERÇÃO DO ESTUDO	61
4.2	CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO	61
4.3	AMOSTRA DO ESTUDO	61
4.4	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	62
4.4.1	Confidencialidade	62
4.5	DELINEAMENTO DO ESTUDO	62
4.6	CARACTERIZAÇÃO DO SUPLEMENTO NUTRICIONAL DE ÓLEO DE PEIXE	64
4.7	COLETA DE DADOS	65
4.7.1	Caracterização dos pacientes	65
4.7.2	Coleta e preparo do material biológico	66
4.7.3	Coleta de dados antropométricos Avaliação do risco nutricional por meio do Índice de Risco Nutricional (do inglês: Nutrition Risk Index – NRI)	66

4.8	ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, HEMATOLÓGICOS E ANTROPOMÉTRICOS	67
4.8.1	Determinação da composição de ácidos graxos plasmáticos	67
4.8.1.1	Extração lipídica	67
4.8.1.2	Saponificação dos estratos lipídicos	68
4.8.1.3	Derivatização dos ácidos graxos	68
4.8.2	Determinação da concentração de proteína C- reativa e albumina	69
4.8.3	Quantificação de proteínas carboniladas	69
4.8.4	Quantificação da atividade enzimática das enzimas Creatina cinase e Desidrogenase láctica	70
4.8.5	Hemograma	71
4.8.6	Indicadores do estado nutricional	71
4.8.6.1	Avaliação do risco nutricional por meio do Índice de Risco Nutricional (do inglês: <i>Nutrition Risk Index – NRI</i>)	72
4.8.6.2	Avaliação do Índice Prognóstico Nutricional e Inflamatório – IPIN (por meio da relação proteína C-reativa / albumina)	72
4.9	4.9 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS ..	72
5	RESULTADOS	73
6	DISCUSSÃO	89
7	CONCLUSÃO	95
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
	APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido	117
	APÊNDICE B – Orientações e registro do consumo das cápsulas de óleo de peixe	121
	APÊNDICE C – Formulário para coleta de dados	123
	APÊNDICE D – Nota de imprensa	127

1 INTRODUÇÃO

As neoplasias malignas compreendem um grupo de doenças que possuem em comum o crescimento desordenado de células anormais e tendem a se dividir rapidamente de forma agressiva e não controlada, podendo afetar qualquer parte do corpo (WHO, 2015). Quando originárias de células da linhagem hematopoiética e do sistema imunitário são chamadas de neoplasias hematológicas, representadas principalmente pelas leucemias e linfomas, respectivamente. (PEREIRA et al., 2008).

O desenvolvimento das leucemias pode estar relacionado a fatores genéticos, ambientais, substâncias químicas, radiação ionizante, entre outros. Estes fatores podem afetar um precursor hematopoiético fazendo com que este deixe de proliferar e diferenciar de forma controlada e ordenada. As leucemias podem ser classificadas, de uma maneira geral, em agudas e crônicas de acordo com o grau de maturação das células, e em linfoides e mieloides dependendo da linhagem acometida (BAIN, 2003; POLLOCK et al., 2006). Os linfomas têm início a partir da transformação maligna de um linfócito no sistema linfático. Este sistema produz e transporta os leucócitos que são células responsáveis por combater as infecções e participam do sistema de defesa do organismo. Os diversos tipos de linfomas têm comportamento e graus de agressividade variados podendo ser divididos em dois grandes grupos: linfoma de Hodgkin (LH) e linfoma não-Hodgkin (LNH) (MOUNTER; LENNARD, 1999).

Alguns autores sugerem que os indivíduos com neoplasias hematológicas no momento do diagnóstico não apresentam baixo peso corporal e que a presença de excesso de peso está relacionada com melhoras na sobrevida (MEDEIROS et al., 2012; CARSON, et al., 2012; BRUNNER et al., 2013). Porém, com a progressão da doença e com o tratamento quimioterápico, estes indivíduos poderão perder peso (IVERSEN et al., 2008). Os quimioterápicos, por atuarem de forma inespecífica, podem causar danos em células sadias afetando principalmente as de rápido crescimento, como as do trato gastrointestinal, capilares e do sistema imunológico (ALMEIDA et al., 2005; CALIXTO-LIMA; 2012). Os efeitos colaterais oriundos dos danos causados a estas células poderão conduzir à ingestão alimentar diminuída, à absorção de nutrientes prejudicada e também à desnutrição, a qual é associada ao maior tempo de hospitalização, aumento da morbimortalidade, menor resposta ao tratamento e qualidade de vida

diminuída (CAPRA; FERGUSON; RIED, 2001; LADAS et al., 2005; CALIXTO-LIMA; 2012).

Além do comprometimento nutricional, os pacientes com câncer apresentam condições alteradas de estresse oxidativo. Este ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a desintoxicação realizada por sistemas biológicos antioxidantes (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004). Nos últimos anos, tem se tornado evidente que em comparação com tecidos saudáveis, as células neoplásicas apresentam concentrações mais elevadas de ERO (SZATROWSKI, NATHAN, 1991; KAWANISHI et al., 2006). As ERO podem promover aspectos do desenvolvimento e progressão neoplásica, assim como podem estar envolvidas no controle da progressão do ciclo celular (SOSA, 2013). Um aumento intracelular desproporcional de ERO, induzido com tratamento quimioterápico, pode levar à parada permanente do ciclo celular, podendo terminar em senescência e apoptose, a qual é associada ao aumento do estresse oxidativo mitocondrial (CADENAS, 2004; SIMON, 2000). As células neoplásicas parecem ser mais sensíveis a agentes que causam um maior acúmulo de ERO do que as células saudáveis, dessa maneira diversos medicamentos utilizados na quimioterapia agem induzindo altas concentrações de ERO (BARRERA, 2012; CONKLIN, 2004).

A utilização do óleo de peixe como suplemento tem sido associada à melhora ou manutenção do estado nutricional e à maior eficácia da quimioterapia, sugerindo um potencial adjuvante ao tratamento do câncer (FEARON et al., 2006; MURPHY, et al., 2011; VAN DER MEIJ et al., 2012; VAUGHAN; HASSING; LEWANDOWSKI, 2013). Os AGPI n-3, presentes no óleo de peixe, têm sido evidenciados devido efeito modulador atribuído aos ácidos graxos EPA e DHA. Estudos sugerem que os lipídeos contendo ácidos graxos Docosahexaenóico (DHA) e Eicosapentaenoico (EPA,) podem sensibilizar células cancerígenas ou tumores a fármacos antineoplásicos, preservando ou mesmo protegendo os tecidos saudáveis. Esta abordagem explora alterações bioquímicas das células neoplásicas, sendo uma delas a sensibilidade ao estresse oxidativo (BARACOS; MAZURAK; MA, 2004; HAJAJI; BOUGNOUX, 2012).

Nos últimos anos, os possíveis efeitos dos AGPI n-3 têm sido demonstrados nas neoplasias hematológicas, porém na sua maioria *in vitro* (FAHRAMAN et al., 2013; HAJAJI et al., 2013) e com base na literatura, até o presente momento, não foram realizados estudos relacionando suplementação de óleo de peixe à carbonilação proteica e aos marcadores de lesão celular plasmáticos de indivíduos com

neoplasias hematológicas em quimioterapia. Dessa forma, entende-se a necessidade de estudos que avaliem a importância da suplementação de óleo de peixe nestes indivíduos como um adjuvante.

Sendo assim, formulou-se a seguinte pergunta de partida: *Qual o efeito da suplementação oral de 2 g/dia de óleo de peixe durante nove semanas sobre estado nutricional, carbonilação proteica e marcadores de lesão celular plasmáticos de indivíduos com neoplasias hematológicas em tratamento quimioterápico?*

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Câncer é o termo genérico utilizado para representar um grande grupo de doenças que possuem em comum o crescimento desordenado de células anormais que tendem a se dividir rapidamente de forma agressiva e não controlada, levando à formação de tumores ou neoplasias malignas que podem afetar qualquer parte do corpo (WHO, 2015). Quando as neoplasias malignas são originárias de células da linhagem hematopoiética e do sistema imunitário, são chamadas de neoplasias hematológicas, representadas principalmente pelas leucemias e pelos linfomas, constituindo 8% do desenvolvimento neoplásico em humanos (PEREIRA, et al., 2008).

2.1.1 Leucemias

As leucemias representam um grupo heterogêneo de neoplasias malignas e são originárias de células da linhagem hematopoiética. O desenvolvimento das leucemias pode estar relacionado a fatores genéticos, ambientais, substâncias químicas, radiação ionizante, entre outros. Estes fatores podem afetar um precursor hematopoiético fazendo com que este deixe de proliferar e diferenciar de forma controlada e ordenada. Quando em processo normal as células-tronco mieloides são maturadas em mieloblastos que dão origem a eritrócitos, plaquetas e granulócitos e as células-tronco linfoides são maturadas em linfoblastos, dando origem a outros tipos de leucócitos, linfócitos T, B e células Natural Killers (NK) (POLLOCK et al., 2006). De uma forma geral, as leucemias são classificadas em agudas e crônicas de acordo com o grau de maturação das células, e em linfoides e mieloides dependendo da linhagem acometida (BAIN, 2003).

As leucemias agudas resultam do acúmulo de células imaturas, denominadas blastos, e sem função na medula óssea, apresentando uma rápida progressão (KUMAR et al., 2008). A produção de hemácias, leucócitos e plaquetas é reduzida implicando em manifestações como anemia, infecções e sangramentos (POLLOCK et al., 2006; LITTLE et al., 2009). Em contrapartida, as leucemias crônicas possuem um desenvolvimento lento e mantém a capacidade de diferenciação do clone neoplásico, resultando no acúmulo de células maduras na medula óssea (COSTA, 2010; LITTLE et al., 2009).

A leucemia linfóide aguda (LLA) é caracterizada pela produção descontrolada de linfoblastos na medula óssea e no sangue periférico, podendo disseminar para linfonodos, baço, fígado e sistema nervoso central. Tem uma predileção pelo sexo masculino e sua incidência no adulto é 1/3 da incidência em crianças, ocorrendo principalmente nos dois aos quatro anos de idade (OLIVEIRA; DINIZ; VIANNA, 2004; POLLOCK et al., 2006; LITTLE et al., 2009;). As causas do desenvolvimento são imprecisas e poucos casos são relacionados com predisposição genética, exposição a algumas drogas e radiação ionizante. A confirmação do diagnóstico é obtida através do mielograma apresentando mais de 20% de células blásticas na medula óssea, pelos critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) e associado à imunofenotipagem, a qual é importante para estabelecer a linhagem celular afetada: células T, células B maduras ou fenótipos precursores de células B (POLLOCK et al., 2006).

Os sinais e sintomas mais observados são fadiga, febre e dores nos ossos e as características clínicas da doença são consequência da produção diminuída de hemácias, leucócitos e plaquetas, resultando em anemia, infecção e sangramentos. Os pacientes podem apresentar hiperuricemia, hiperfosfatemia, hipocalcemia e aumento da desidrogenase láctica (LDH), em consequência da destruição celular aumentada. (POLLOCK et al., 2006; LITTLE et al., 2009). O tratamento normalmente consiste de uma fase de indução a remissão, uma fase de consolidação da remissão e uma terapia de continuação para eliminar doença residual (PUI; ROBISON; LOOK, 2008). A maioria dos quimioterápicos utilizados no tratamento inteira o ácido desoxirribonucleico (DNA) ou inibe a síntese de ácido nucleico, alguns bloqueiam a síntese de proteínas hidrolisando aminoácidos essenciais para o crescimento das células neoplásicas ou interferindo no mecanismo de mitose. Devido a falta de especificidade, essas drogas podem produzir efeitos adversos em outros tecidos (PUI, JEHA, 2007).

A leucemia aguda mais comum em adultos e idosos, aparecendo normalmente por volta dos 60 anos, é a leucemia mieloide aguda (LMA), tendo igualmente à LLA uma predileção pelo sexo masculino (BAIN, 2003). Neste tipo de leucemia ocorre uma proliferação descontrolada de células indiferenciadas, chamadas de mieloblastos, na medula óssea e sangue periférico (LITTLE et al., 2009; POLLOCK et al., 2006; SABBAGA; SANCHES, 1996).

O aumento das células imaturas no sangue, que não exercem adequadamente suas funções e sobrevivem por mais tempo que as células normais, podem causar sinais e sintomas como mal-estar,

palidez, sangramentos e petéquias, decorrentes da anemia e trombocitopenia (McKENZIE, 2005). Os sintomas relatados pelo paciente e os sinais apresentados podem sugerir o diagnóstico e a confirmação se dá pelo mielograma, quando 20% de mieloblastos, pelo menos, são encontrados na medula ou no sangue periférico e ainda deve-se realizar imunofenotipagem e citogenética (BREVIGLIERI; CHOAIRY, 2010; LITTLE et al., 2009). O tratamento quimioterápico é dividido na fase indução da remissão, que leva a remissão completa na maioria dos pacientes e na fase pós-remissão, para manutenção (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2013).

A leucemia linfóide crônica (LLC) é caracterizada pelo acúmulo de linfócitos clonais maduros na corrente sanguínea, medula óssea e nos tecidos linfáticos. Estes linfócitos são maduros morfológicamente, porém para funções imunológicas são imaturos (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2013; POLLOCK et al., 2006). É uma neoplasia que ocorre mais comumente em indivíduos com idade superior a 50 anos (DIGHIERO; HAMBLIN, 2008). Na maioria dos casos, é assintomática e o diagnóstico ocorre em um exame de rotina. A confirmação e o diagnóstico diferencial são obtidos pela imunofenotipagem (BREVIGLIERI; CHOAIRY, 2010). Em alguns indivíduos são observados sintomas como fadiga, perda de peso, anorexia, linfadenopatia e esplenomegalia, podendo ocasionalmente, desenvolverem auto-anticorpos contra plaquetas ou hemácias levando a anemia hemolítica e trombocitopenia. Quando evoluída para uma forma mais agressiva, a sobrevida é menor que um ano (CLEMENTINO, MURAD e ROCHA, 1996).

A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa, caracterizada pela proliferação exacerbada de leucócitos maduros da linhagem mieloide, o que ocasiona esplenomegalia e níveis altos de leucócitos periféricos. Acomete principalmente homens e idosos com idade superior a 60 anos (HAMERSCHLAK, 2008). O diagnóstico ocorre muitas vezes por acaso com exames clínicos e de rotina e a confirmação é feita por mielograma e citogenética, identificando em mais de 90% dos casos o cromossomo Filadélfia (BREVIGLIERI; CHOAIRY, 2010; CLEMENTINO, MURAD e ROCHA, 1996). É um cromossomo resultante da translocação recíproca e equilibrada entre os braços longos dos cromossomos 9q34 e 22q11, gerando a proteína híbrida BCR-ABL. Esta, quando hiperativa, desencadeia liberação de efetores da proliferação celular e inibidores da apoptose, sendo responsável pela oncogênese inicial da LMC (HAMERSCHLAK, 2008).

Esta doença possui um quadro clínico heterogêneo e a evolução pode ocorrer em três fases. Na fase crônica, que pode ter duração de 3 a 5 anos, ocorre proliferação clonal maciça das células granulocíticas, as quais mantêm a capacidade de diferenciação de fácil controle (CORTES; KANTARJIAN, 2003). Posteriormente, num período de tempo variável, o clone leucêmico perde a capacidade de diferenciação e a doença passa a ser de difícil controle, sendo chamada de fase acelerada a qual progride para a terceira fase: leucemia aguda ou crise blástica (CORTES; KANTARJIAN, 2003). A maioria dos pacientes na fase crônica é assintomática, entretanto a anemia pode implicar em fadiga, perda de peso, fraqueza e sudorese noturna. Ainda, por acúmulo de leucócitos nos vasos sanguíneos pulmonares, cerebrais ou da retina, pode ocorrer dispnéia, sonolência, confusão ou perda da acuidade visual (POLLOCK et al., 2006). O tratamento inclui quimioterapia, transplante de células tronco e esplenectomia, sendo específico para cada fase (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2013).

Mundialmente a incidência de leucemia é de 8 a 10 casos por 100 mil habitantes por ano, sendo mais frequente em homens do que em mulheres. Para os anos de 2014 e 2015, no Brasil, é estimado um risco de 5,20 casos novos de leucemia para cada 100 mil homens e 4,24 para cada 100 mil mulheres. Na região sul, este tipo de câncer está classificado como o 10º mais frequente nos homens (8,13/ 100 mil) e como a 8º mais frequente nas mulheres (6,30/ 100 mil). Santa Catarina tem uma taxa estimada de 7,08 casos para cada 100 mil homens e 5,79 casos para cada 100 mil mulheres (INCA, 2014).

2.1.2 Linfomas

Outro subgrupo das neoplasias hematológicas são os linfomas, os quais iniciam a partir de uma transformação maligna de um linfócito no sistema linfático. Este é composto por órgãos, vasos e tecidos linfáticos e pelos linfonodos, distribuídos pelo corpo ajudando na defesa contra infecções. Este sistema é responsável pela produção e transporte dos leucócitos, os quais são células que combatem as infecções e participam do sistema de defesa do organismo (MOUNTER; LENNARD, 1999). Os diversos tipos de linfomas têm comportamento e graus de agressividade variados e podem ser divididos em dois grandes grupos: linfoma de Hodgkin e linfoma não-Hodgkin.

Linfoma de Hodgkin é considerado uma das síndromes linfoproliferativas mais comuns em jovens e uma das neoplasias com melhor taxa de cura. Um dos marcadores de linfoma de Hodgkin é a

presença de células Reed-Sternberg no tecido tumoral que são linfócitos grandes, anormais e que podem conter mais de um núcleo (CRUZ-MERINO et al., 2012).

Linfomas não-Hodgkin são tipos de linfomas que surgem de subsequentes mutações genéticas, as quais levam ao crescimento das células neoplásicas (NOGAI; DORKEN; LENZ, 2011). É considerado um grupo complexo de aproximadamente 40 formas distintas. Após o diagnóstico, a doença é classificada de acordo com o tipo de linfoma e o estágio em que se encontra. Eles são agrupados de acordo com o tipo de célula linfóide, sendo linfócitos B ou T e podem ser divididos em dois grandes grupos: indolentes ou agressivos. Os primeiros possuem um crescimento relativamente lento e sem expressivos sintomas, porém a cura é menos provável do que nas formas agressivas, as quais podem levar rapidamente ao óbito se não tratados, mas em geral, possuem maior probabilidade de cura. A maioria dos linfomas é tratada com quimioterapia, radioterapia ou ambos, sendo a imunoterapia cada vez mais incorporada ao tratamento (INCA, 2014).

Para o Brasil, nos anos de 2014 e 2015, estimam-se 1.300 casos novos de linfoma de Hodgkin (LH) em homens e 880 em mulheres. Esses valores correspondem a um risco estimado de 1,28 casos novos a cada 100 mil homens e 0,83 a cada 100 mil mulheres. Santa Catarina tem uma taxa estimada de 1,45 casos para cada 100 mil homens e 1,09 casos para cada 100 mil mulheres (INCA, 2014). Para linfoma não-Hodgkin estimam-se 4.940 casos novos em homens e 4.850 em mulheres. Correspondendo a um risco estimado de 5,04 casos novos a cada 100 mil homens e 4,77 a cada 100 mil mulheres. Santa Catarina tem uma taxa estimada de 5,87 casos para cada 100 mil homens e 4,53 casos para cada 100 mil mulheres (INCA, 2014).

2.2 ESTADO NUTRICIONAL NAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

O estado nutricional alterado é uma condição frequente dos indivíduos com câncer. Este estado alterado pode ser por excesso ou déficit de peso e ambos podem ser relacionados ao aumento da susceptibilidade a complicações e a maiores índices de mortalidade e morbidade (BERTERETCHE, 2004). A alteração nutricional irá depender das características da doença, incluindo o tipo de câncer, a localização e estadiamento, assim como das características pessoais do indivíduo (WAITZBERG, 2000; TEIXEIRA, 2002; TISDALE, 2003). A modificação da composição corporal dos indivíduos com câncer pode

ser vista em decorrência de alterações hormonais, alterações no metabolismo de macronutrientes; fadiga física e mental, contribuintes na perda de peso; variações do estado de hidratação, decursivas de alterações eletrolíticas, hipoalbuminemia, ascite, edema, linfedema; do uso de medicamentos do tipo corticoide, contribuintes no ganho de peso; além do protocolo quimioterápico utilizado (INCA, 2014).

Alguns autores sugerem que os indivíduos com neoplasias hematológicas no momento do diagnóstico não apresentam baixo peso corporal e que a presença de excesso de peso está relacionada com melhoras na sobrevida (MEDEIROS et al., 2012; CARSON, et al., 2012; BRUNNER et al., 2013). Kenneth e colaboradores (2012) ao avaliarem indivíduos com LNH, em um estudo de coorte de 1998 a 2008, observaram que destes indivíduos 39% estava com excesso de peso e 25% estava obeso segundo índice de massa corpórea (IMC) com classificações da WHO 2008. Alibhai e colaboradores (2012) ao realizarem um ensaio clínico com indivíduos adultos recentemente diagnosticados com LMA ou reincidentes recentes submetidos à quimioterapia mostraram que todos os indivíduos estavam classificados com excesso de peso, com IMC médio de $26,6 \text{ kg/m}^2$. O mesmo pôde ser visto no estudo de Medeiros e colaboradores (2012) ao também avaliarem indivíduos recentemente diagnosticados com LMA, dentre os 1.974 avaliados, 63% estava em excesso de peso/obesidade, com IMC médio de $26,7 \text{ kg/m}^2$.

Com a progressão da doença e com o tratamento quimioterápico, os indivíduos com neoplasias hematológicas poderão perder peso (IVERSEN et al., 2008). Os quimioterápicos, por atuarem de forma inespecífica, podem causar danos em células saudáveis e as mais afetadas são as de rápido crescimento, como células do trato gastrointestinal, capilares e do sistema imunológico (ALMEIDA et al., 2005; CALIXTO-LIMA; 2012). Os danos causados a estas células poderão implicar em náuseas e vômitos, diarreia, disfagia, mucosite, estomatite, saciedade precoce e febre (CAPRA; FERGUSON; RIED, 2001; RAVASCO et al., 2003; BAYRAM et al., 2009).

Náuseas e vômitos aparecem como uma das maiores preocupações entre os pacientes e 42 a 52% destes apresentam esses sintomas pós-quimioterapia (GLAUS et al., 2004; MOLASSIOTIS et al., 2008). Entre os quimioterápicos comumente utilizados, 30% são indutores de náuseas e vômitos, sendo a cisplatina considerada o fármaco com maior potencial indutor, seguida por fármacos como lomustina, doxorrubicina, citarabina e fluorouracil (CALIXTO-LIMA; 2012). Estes efeitos colaterais poderão levar à ingestão alimentar

diminuída, à absorção de nutrientes prejudicada e também à desnutrição, a qual é associada ao maior tempo de hospitalização, aumento da morbimortalidade, menor resposta ao tratamento e qualidade de vida diminuída (CAPRA; FERGUSON; RIED, 2001; LADAS et al., 2005; CALIXTO-LIMA; 2012). Alguns fármacos, como antracíclicos e ciclofosfamida, também podem promover perda de massa magra, a qual é associada à maior morbidade e mortalidade (FREEDMAN et al., 2004; MCMILLAN, 2009).

A intervenção nutricional no câncer é de relevante importância para proporcionar estado nutricional adequado e auxiliar no manejo dos sintomas adversos recorrentes ao tratamento quimioterápico, contribui na melhora de parâmetros bioquímicos e fisiológicos, na função imunológica, na resposta ao tratamento e na qualidade de vida dos indivíduos (GARÓFOLO, 2004; DAVIES, 2005; OLIVEIRA, 2007; BARBOSA et al., 2009; LIS et al., 2014). Pode ser realizada com orientações dietéticas, terapia nutricional enteral ou parenteral, além de poder ser acrescida de suplementos alimentares orais com propriedades anti-inflamatórias, como por exemplo, alguns ácidos graxos poli-insaturados. A intervenção nutricional irá depender das características da doença, do tratamento, das individualidades do paciente e da avaliação do estado nutricional (GARÓFOLO, 2002; ARGILÈS, 2005).

2.2.1 Avaliação do estado nutricional e proteínas de fase aguda

A avaliação do estado nutricional do indivíduo com câncer deve estar presente no plano terapêutico com o objetivo de monitorar a composição corporal a fim de prevenir, identificar e reverter alterações nutricionais. Devido o estado nutricional dos indivíduos com câncer depender de diversos fatores, nenhum método sozinho é considerado como indicador sensível e específico para avaliação nutricional (BARBOSA-SILVA, 2002; GUIMARÃES, 2002).

Entre alguns dos métodos utilizados para a avaliação de indivíduos adultos estão: 1) Métodos subjetivos, como a avaliação subjetiva global, cujos parâmetros avaliados são a variação de peso nos últimos seis meses, variação da ingestão alimentar, capacidade funcional física, edema e ascite. 2) Métodos objetivos, como parâmetros antropométricos, mensurando as variáveis peso, altura, IMC, circunferências e dobras cutâneas. Apesar de o IMC ser uma medida simples e bem utilizada e ter uma forte associação com diversas patologias, representa a soma de todos os compartimentos corporais e não diferencia composição corporal, condição hídrica e diferenças na

estrutura óssea dos indivíduos. Em contrapartida as circunferências e dobras cutâneas fornecem estimativa das reservas corporais e indicam reserva de gordura e massa magra. Testes como bioimpedância elétrica, tomografia axial computadorizada, entre outros, são métodos objetivos e precisos na avaliação da composição corporal, porém de alto custo sendo pouco utilizados (BARBOSA-SILVA, 2002; PALMA; ROSA, 2005). 3) Parâmetros bioquímicos, como albumina, pré-albumina, transferrina, hemoglobina e hematócrito; métodos imunológicos (contagem total de linfócitos, testes de hipersensibilidade cutânea tardia) e balanço nitrogenado (BAXTEE; WAITZBERG, 2000).

A albumina é uma proteína de fase aguda negativa sintetizada no fígado e geralmente é um parâmetro utilizado na avaliação do estado nutricional, na gravidade e progressão da doença (GUPTA; LIS, 2010). Suas concentrações séricas tendem a estar reduzidas durante inflamação e na inadequada ingestão proteica e calórica. A inflamação induz anorexia, reduz a ingestão calórica e a eficácia da utilização da proteína dietética, aumentando o catabolismo e reduzindo as concentrações de albumina através de uma cascata de eventos cíclicos (DON; KAYSEN, 2004).

A associação de albumina sérica, peso corporal atual e usual, é utilizada para determinar o Índice de Risco Nutricional (NRI), desenvolvido pelo “*Veterans Affairs Total Parenteral Nutrition Cooperative Study Group*” (1991), em que os pacientes são classificados de acordo com o NRI obtido através dos pontos de corte definidos. Este índice vem sendo utilizado na avaliação de indivíduos com diferentes condições e desfechos clínicos e para avaliar o impacto de intervenções nutricionais (LUPO et al., 1993; SCHNEIDER et al., 2004; KYLE et al., 2005).

A albumina sérica também é utilizada junto da proteína C-reativa (PCR) para determinar o Índice de Prognóstico Inflamatório e Nutricional (IPIN). A relação PCR/albumina representa um indicador simplificado do IPIN, proposto originalmente em 1985 por Ingenbleek e Carpentier para avaliar a intensidade da inflamação/desnutrição. A PCR é uma proteína de fase aguda positiva cuja síntese é aumentada no fígado em resposta à inflamação e infecção, mas é diminuída rapidamente após a resolução, sendo assim amplamente utilizada na avaliação de diversos estados inflamatórios (DU CLOS, 2000). Pôde ser observado um incremento na PCR de 73% dos indivíduos diagnosticados com câncer gastrointestinal no estudo de Lima e Maio (2012) e 43% foram classificados como risco de complicações segundo a relação PCR/albumina. Ranzini e colaboradores (2013) ao realizarem

um estudo com pacientes sépticos em cuidados intensivos, mostraram que a relação PCR/albumina foi um bom marcador de mortalidade em prazo de 90 dias. Em pacientes com câncer colo retal, a relação PCR/albumina mostrou-se útil para prever a sobrevida, sendo independente do estágio do tumor e outras características patológicas de alto risco (ROXBURGH et al, 2009; ROXBURGH & MCMILLAN, 2010).

2.3 RELAÇÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO E CÂNCER

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) faz parte de diversas condições fisiológicas do organismo humano, sendo produzidas naturalmente ou por alguma disfunção biológica (PIETTA, 2000; VISIOLI et al., 2000).

Espécies reativas podem ser produzidas por fontes exógenas como radiação ionizante, raios ultravioletas A (UVA), substâncias químicas, entre outros, ou por fontes endógenas como mitocôndrias, atividade de algumas enzimas como xantina oxidase, citocromo P450-oxidase, monoaminooxidases, as enzimas envolvidas na via de produção de prostaglandinas e tromboxanos, e a NADPH-oxidase (Sistema enzimático nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato-oxidase) da membrana plasmática de macrófagos. Podendo também ser geradas nos peroxissomos e leucócitos (HALLIWELL, 1999). As principais ERO dividem-se em radiculares: hidroxila (HO^\bullet), superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peroxila (LOO^\bullet) e alcóxila (LO^\bullet); e em não-radicalares: oxigênio (O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido hipocloroso (HClO). Dentre as ERN destacam-se o óxido nítrico (NO^\bullet), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos (ONOO^-) (HALLIWELL, 1999).

A modulação da concentração de ERO intracelulares é crucial para a homeostasia celular, pois concentrações diferentes podem induzir diferentes respostas biológicas. Estas diferentes respostas dependem também da magnitude das concentrações, da duração da exposição, da localização e da natureza das espécies reativas envolvidas (STORZ, 2005; CAIRNS; HARIS; MAK; 2011). Em concentrações baixas a moderadas, as ERO atuam como moléculas de sinalização que sustentam a proliferação e diferenciação celular (PAROLLA, 1999). Em concentrações elevadas, as ERO induzem a apoptose ou necrose celular. Podem facilmente reagir com lipídios de membrana, provocando uma alteração na permeabilidade levando à lesão celular; com o DNA, causando danos e instabilidade genômica, sendo as alterações do

material genético, a partir da oxidação, envolvidas na mutagênese e carcinogênese; além de reagirem com proteínas, as quais sofrem pela geração e acumulação de grupos carbonilas (aldeídos e cetonas) e grupos tióis (-SH) (FINKEL; HOLDBROOK, 2000; VISIOLI, et al., 2000; MARTINDALE; HOLDBROOK, 2002; HARRIS; MAK, 2013). Devido a essa modificação oxidativa induzida, há alteração na estrutura da proteína com consequentes modificações ou perdas de função proteica (LEVINE, 2002).

Com o objetivo de neutralizar as espécies reativas, existe o sistema de defesa antioxidante. Segundo Halliwell e Gutteridge (1999), os antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade de oxidação por um ou mais mecanismo e podem agir diretamente na neutralização da ação das espécies reativas ou participar indiretamente de sistemas enzimáticos com essa função.

O sistema antioxidante é constituído por componentes enzimáticos e não enzimáticos que atuam conjuntamente na proteção celular. Os principais componentes do sistema enzimático são a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx), que agem no início da cadeia de formação das espécies reativas. A defesa secundária que impede a propagação da lipoperoxidação (LPO) e remove H_2O_2 e outros peróxidos, é realizada pelas enzimas glutathione S-transferase (YU, 1994; GAGODOMINGUEZ; CASTELAO, 2006). O sistema não enzimático é constituído por compostos produzidos *in vivo* como, glutathione reduzida (GSH), ubiquinona, ácido úrico e proteínas de transporte de metais de transição, além de compostos obtidos diretamente da dieta, podendo provir dos alimentos ou de suplementos (CERQUEIRA et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2007).

A funcionalidade dos antioxidantes *in vivo* depende de fatores como sua concentração presente e os tipos de espécies reativas formadas, assim como, onde e como são formadas (CERQUEIRA et al., 2007). Dessa maneira, é possível que um antioxidante atue como protetor em determinado sistema, porém, falhe na proteção ou até aumente os danos causados em outros sistemas ou tecidos (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004).

O desequilíbrio entre a produção e desintoxicação realizada por sistemas biológicos antioxidantes, é denominado estresse oxidativo (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004). O processo de estresse oxidativo está relacionado a um amplo espectro de doenças, incluindo doenças inflamatórias e diversos tipos de câncer, uma vez que a geração excessiva de espécies reativas converge em frequente lesão celular

(HALLIWELL, 1994; REUTER, 2010; SOSA, 2012). Nos últimos anos, tem se tornado evidente que em comparação com células de tecidos saudáveis, as células neoplásicas apresentam níveis mais elevados de ERO (SZATROWSKI; NATHAN, 1991; KAWANISHI et al., 2006). Estudos mostraram que células leucêmicas isoladas a partir de amostras sanguíneas de pacientes com leucemia linfocítica crônica ou leucemia de células pilosas, apresentaram um aumento na produção de ERO, em comparação com linfócitos normais (ZHOU, 2003; KAMIGUTI et al., 2005).

Na fase inicial do câncer, agentes físicos, químicos ou biológicos causam uma alteração na estrutura molecular do DNA celular, sendo seguido pelo estágio de promoção onde a expressão dos genes que regulam o crescimento celular é alterada. Enquanto os agentes de iniciação podem reagir diretamente com o material genético, os agentes de promoção podem alterar a expressão gênica por mecanismos indiretos. Alguns compostos são considerados “cancerígenos completos”, pois podem tanto iniciar como promover a atividade cancerígena (SZENT-GYORGYI, 1960; SALVAYRE, 2010). As ERO podem promover aspectos do desenvolvimento e progressão neoplásica, como proliferação celular, evasão de apoptose, invasão de tecidos, metástases e angiogênese (SOSA, 2012). Foi demonstrado que as ERO podem ativar as vias MAPKs (proteínas cinase ativadas por mitógenos), subfamília de proteínas-cinase envolvidas na regulação de diversas atividades celulares como expressão gênica, mitose, diferenciação e sobrevivência celular; PI3K (fosfoinosítideo 3-cinase), família de enzimas envolvidas em funções celulares proliferação, diferenciação, mobilidade e sobrevivência; PLC γ 1 (fosfolipase C- γ 1), proteína codificada envolvida na transdução intracelular de ativadores de tirosina quinase mediada por receptores; PKC (proteína cinase C), proteína envolvida em diversas cascatas de transdução de sinal; e NF- κ B (fator nuclear *kappa* B), complexo proteico que desempenha funções como fator de transcrição, estando envolvido na resposta celular a estímulos como estresse e na resposta imunitária (PAROLLA, 1999; FINKEL; HOLDBROOK, 2000; MARTINDALE; HOLBROOK, 2002; LEONARD; HARRIS; SHI, 2004; GLOIRE; LEGRAND-POELS; PIETTE, 2006).

Por outro lado, as ERO também estão envolvidas no controle da progressão do ciclo celular. Diversos estudos têm demonstrado que a hiperoxia induz a inibição das fases G1, S e G2 do ciclo celular (SHENBERGER; DIXON, 1999; HELT et al., 2001). Hiperoxia (95% O₂) também causou aumento na expressão e fosforilação de p53 e uma

parada do ciclo celular em células de carcinoma do cólon (HELT, 2001). Enquanto que, uma parada da progressão induzida por um pequeno aumento do estresse oxidativo pode ocorrer em fases G1, S e G2 e pode ser transitória, um aumento intracelular desproporcional de ERO, induzido com tratamento quimioterápico, pode levar a uma parada permanente do ciclo celular. Podendo terminar em senescência e apoptose, a qual está associada a um aumento do estresse oxidativo mitocondrial que provoca a libertação de citocromo C e a consequente ativação de caspases e morte celular (SIMON, 2000; CADENAS, 2004;). As células neoplásicas parecem ser mais sensíveis a agentes que causam um maior acúmulo de ERO, do que as células normais, dessa maneira diversos medicamentos utilizados na quimioterapia, agem induzindo a produção de altos níveis de ERO (CONKLN, 2004; BARRERA, 2012;). Porém, mesmo que esses quimioterápicos inicialmente induzam aos altos níveis de ERO, com tratamento prologando esses níveis caem, levando a uma eficácia do tratamento diminuída (MERENDINO et al., 2013).

Após o estresse oxidativo, tanto a proliferação celular como a parada do ciclo celular, podem ser observadas. As respostas celulares irão depender de onde as ERO foram produzidas, da concentração destas e da concentração de antioxidante nas células (STORZ, 2005).

2.3.1 Carbonilação proteica

A ação danosa das espécies reativas podem promover alterações nas moléculas proteicas desencadeando processos de oxidação dos aminoácidos e modificando a função destes (LEVINE et al., 1990). Recentes estudos mostram que as proteínas são o alvo principal do dano oxidativo, principalmente no plasma (MICHAEL; BRON, 2011; SERMIN et al., 2015). Durante o estresse oxidativo, o primeiro evento a ocorrer é a formação de um radical centrado no carbono, por extração de H[•] do carbono α , em uma ligação peptídica, gerando fragmentação das cadeias e oxidação de quase todos os tipos de aminoácidos (BARREIROS; DAVID, 2006).

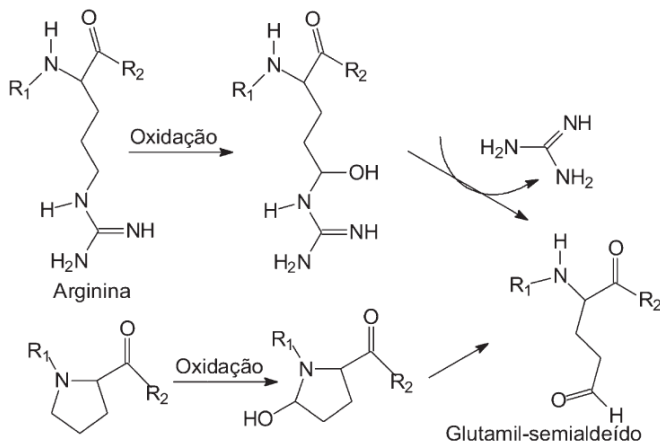
Todos os aminoácidos são susceptíveis à oxidação, principalmente os aromáticos, que são os alvos preferenciais (BERLETT; STADTMAN, 1997; THÉRON et al., 2000). A oxidação direta de lisina, arginina, prolina e treonina fornece derivados carbonílicos (Figura 1). Estes derivados carbonílicos também podem ser gerados via clivagem oxidativa de proteínas (α -amidação ou oxidação de grupos glutamyl), o que leva a formação de um peptídeo cujo domínio

N-terminal é bloqueado por um derivado cetoacil. Além disso, grupos carbonila podem ser introduzidos em proteínas por uma reação de grupamentos laterais nucleofílicos de lisina, cisteína e histidina com aldeídos derivados da peroxidação lipídica como malondialdeído (MDA), 4-hidroxinonenal (4-HNE) e acroleína ou gerados a partir da reação de redução de açúcar, como glicose ou ainda produtos de sua oxidação com resíduos de lisina, reações de glicação e de glicoxidação formando carboximetil-lisina (BERLETT; STADTMAN, 1997; DALLE-DONE et al., 2003).

O conteúdo carbonílico de proteínas é tido como o marcador mais comum de oxidação proteica, o qual é passível de detecção, quantificação e oxidação catalisada por metais, utilizando o reagente 2,4-dinitrofenilhidrazina (LEVINE et al., 1990; BERLETT, 1997; CHEVION et al., 2000). As proteínas carboniladas possuem uma grande vantagem sobre a peroxidação lipídica como biomarcadores de estresse oxidativo por serem geralmente mais estáveis. Elas podem circular no sangue por períodos de tempo mais longo (sua elevação no soro é estável por pelo menos quatro horas), quando comparada com outros parâmetros de estresse oxidativo como glutathione dissulfeto (GSSH) e MDA (PANTKE et al., 1999).

O acúmulo da concentração de grupos carbonilas tem sido observado em diversas doenças humanas. As proteínas agregadas ao não serem degradadas pelos mecanismos normais, levam à inibição do processo proteolítico, condição que leva à disfunção celular e relaciona-se ao aparecimento de doenças (STADTMAN; LEVINE, 2000; VALKO, 2007). Da mesma maneira, a oxidação proteica leva à inativação de enzimas envolvidas no fornecimento de energia para a célula. A inativação destas enzimas induz à perda de função celular e pode culminar no aparecimento de doenças (TRETTER; ADAM-VIZI, 2000).

Figura 1. Exemplos de processos de formação de grupos carbonila por oxidação de aminoácidos.



Fonte: VASCONCELOS, 2007.

O aumento significativo da concentração de proteínas carboniladas já foi observado em diferentes tipos de câncer como de pulmão e de bexiga (PIGNATELLI et al., 2001; YLMAZ et al., 2003). Assim como, observado por Popadiuk e colaboradores (1998) em um estudo realizado com 60 crianças com variados tipos de neoplasias, incluindo câncer cerebral, câncer de fígado, câncer ósseo e linfoma. Diversos estudos tem pontuado a relação do estresse oxidativo com as neoplasias do sangue, com particularidade nas doenças linfoproliferativas agudas e crônicas. Morabito e colaboradores (2004) encontraram um elevado conteúdo de proteínas carboniladas em 15 pacientes com LH, sem tratamento, quando comparados a indivíduos saudáveis. Battisti e colaboradores (2008) ao realizarem um estudo com 80 crianças com LLA em diferentes fases de tratamento, mostraram que o conteúdo de proteínas carboniladas estava superior em todos os pacientes quando comparados aos indivíduos controles com LLA sem tratamento. Ahmad e colaboradores (2008) observaram ao realizarem um estudo com 47 indivíduos diagnosticados com LMC, em tratamento quimioterápico, que estes quando comparados a 20 controles saudáveis, apresentaram os níveis de proteínas carboniladas significativamente elevados ($p < 0,05$). Singh e colaboradores (2009) ao compararem 20 voluntários saudáveis a 40 indivíduos com LMC, observaram que estes possuíam níveis plasmáticos de proteínas carboniladas

significativamente aumentados. Musolino e colaboradores (2011) ao avaliarem 48 indivíduos com LLC e 20 indivíduos saudáveis, observaram um elevado nível sérico de grupos carbonilas nos indivíduos com leucemia; relação positiva dos grupos carbonilas com expressão de CD38 e relação negativa dos grupos carbonilas com a expressão da ZAP-70. Os autores concluíram que o conteúdo carbonílico pode ser considerado um fator prognóstico na LLC.

2.3.2 Marcadores de lesão celular plasmáticos

Em resposta a lesão celular provocada pelo estresse oxidativo poderá ocorrer o aumento da atividade extracelular de enzimas que têm ação intracelular como a desidrogenase láctica (LDH) e creatina cinase (CK) (BELL; KHAN, 1999; JOVANOVIĆ et al., 2010; VENKATARAMAN et al., 2009).

A LDH faz parte de uma classe de enzimas que catalisam reações de oxirredução e são amplamente distribuídas em todos os tecidos humanos. É uma enzima tetramérica composta por duas cadeias proteicas, sendo tipo M e tipo H, as quais formam cinco isoenzimas: H4, MH3, M2H, M3h e M4. Estas isoenzimas são denominadas, respectivamente, LDH1, LDH2, LDH3, LDH4 e LDH5, de acordo com sua mobilidade eletroforética, e estão presentes em diferentes proporções nos diferentes tecidos (WESTGARD, 1981).

Na maioria das células, na presença de oxigênio, o piruvato é metabolizado pela via ciclo dos ácidos tricarboxílicos e em condições anaeróbicas ele é convertido em lactato pela enzima LDH, sendo a última etapa da glicólise. Já em células tumorais há glicólise em condições anaeróbicas e produção de lactato mesmo em condições aeróbicas, sendo uma característica das neoplasias malignas (GOLDMAN et al., 1964).

Bierman & Levy em 1957 observaram aumento da concentração sérica de LDH em pacientes com linfomas e leucemias. Alguns estudos, com portadores de linfoma não-Hodgkin correlacionaram a concentração sérica de LDH e atividade da doença encontrando concentrações enzimáticas anormais ao diagnóstico em 27 a 41% dos pacientes (FASOLA et al., 1984; GIANNOULAKI et al., 1989). A concentração sérica de LDH mais baixa nos pacientes durante o diagnóstico, também foi correlacionada a uma taxa de sobrevida estatisticamente superior àquela dos pacientes que apresentavam concentrações mais elevadas (FERRARIS et al., 1979). Nas leucemias linfocíticas aguda, a alta atividade enzimática pode ser relacionada a um

pior prognóstico. Um estudo com 293 crianças com LLA encontrou como resultado a concentração sérica de LDH, na média, duas vezes mais elevada que a concentração normal. Aqueles que apresentaram concentração elevada eram mais propensos a ter recidiva e a não responderem ao tratamento (PUI et al., 1985).

Mani e colaboradores (2006) realizaram um estudo com o objetivo de investigar as concentrações de LDH em pacientes com neoplasias hematológicas para avaliar seu papel no diagnóstico e prognóstico. Foram analisados 256 pacientes e dentre estes 50 estavam diagnosticados com LLA, 40 com LNH, 35 com LMC, 30 com LMA, 15 com LH, 20 com LLC, 25 com mieloma múltiplo e os 50 restantes eram amostras de soro normais utilizadas para controle. Entre os 215 diagnosticados com neoplasias hematológicas, 160 apresentaram concentrações séricas aumentadas de LDH em relação ao controle. O estudo pôde observar também que os pacientes com concentrações mais elevadas de LDH, foram expostos à recidiva precoce da doença, podendo-se concluir que as concentrações séricas de LDH podem ser utilizadas como biomarcador importante no diagnóstico e prognóstico de neoplasias hematológicas (MANI et al., 2006).

Assim como a LDH, a CK também funciona como um catalisador acelerando uma reação bioquímica. Sua principal função nas células é adicionar um grupo de fosfato à creatina, tornando-a uma molécula de fosfocreatina, a qual é utilizada para fornecer energia às células. Ela possui uma estrutura dimérica devido associação de dois tipos de cadeias polipeptídicas, M e B, as quais resultam nas isoenzimas BB (CK1), MB (CK2) e MM (CK3) (TSUNG, 1983). Esta enzima está largamente distribuída no organismo humano e é frequentemente relacionada com câncer. Em 1978, Hoag e colaboradores já tinham constatado, em um amplo estudo, que a atividade sérica da isoenzima CK BB estava elevada em diferentes tipos de neoplasias.

El-Dakory e colaboradores (2014) realizaram um estudo duplo-cego entre janeiro de 2011 e maio de 2013 com quarenta e dois pacientes recentemente diagnosticados com LLA. Estes apresentaram os níveis de atividade da CK significativamente aumentados após o tratamento quimioterápico. Em outro estudo realizado de novembro de 1999 a outubro de 2004 com cinquenta pacientes com LMC, em tratamento quimioterápico, acompanhou cada paciente por no mínimo vinte e quatro meses. Os autores encontraram como resultado os valores médios de CK aumentados significativamente em relação ao tempo. No início do estudo 2% dos pacientes apresentavam valores elevados e este

percentual passou para 30% em seis meses e 40% em doze meses (FRANCESCHINO et al., 2008).

2.4 ÓLEO DE PEIXE E ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS

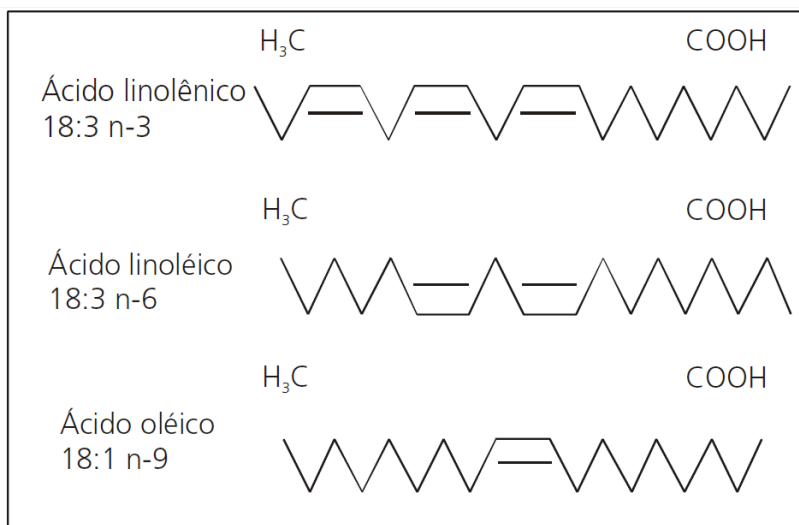
2.4.1 Ácidos graxos poli-insaturados

Ácidos graxos são fontes de energia para o metabolismo e precursores da síntese de fosfolipídeos. São constituintes da membrana celular e possuem importante função relacionada à manutenção da integridade e fluidez da membrana. São ácidos carboxílicos com cadeias hidrocarbonadas e os diferentes tipos encontrados nas células diferem em comprimento de suas cadeias e ao número de duplas ligações carbono-carbono (JIANG, 1998).

Ácidos graxos podem ser saturados, sem nenhuma dupla ligação entre carbonos; monoinsaturados, com uma dupla ligação e poli-insaturados (AGPI), quando apresentam duas ou mais duplas ligações. Dentre os ácidos graxos destacam-se três famílias importantes: n-9, n-3 e n-6. Os termos n-9, mais popularmente conhecido como ômega-9; n-3, como ômega-3 e n-6, como ômega-6, significam, respectivamente, a posição da primeira insaturação ou dupla ligação no nono, terceiro e sexto carbono enumerado a partir do grupo metil terminal (Figura 2) (FAHY et al., 2005).

Os AGPI das famílias n-3 e n-6 são obtidos por meio da dieta ou produzidos pelo organismo a partir dos ácidos graxos essenciais alfa-linolênico (ALA, 18:3), o qual representa a família n-3 e linoléico (LA, 18:2), que representa a família n-6 (ROSE, 1999). No organismo humano o LA pode ser alongado e dessaturado em ácido ariquidônico (AA) e o ALA em ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) e docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3), como mostrado na figura 3 (ANDERSON; MA, 2009). Os ácidos graxos das famílias n-3 e n-6 competem pelas mesmas vias bioquímicas e são distintos metabolicamente, possuindo funções fisiológicas opostas (Figura 3) (BARACOS, 2004; RUXTON et al., 2007).

Figura 2. Estrutura dos ácidos graxos das famílias n-3, n-6 e n-9.

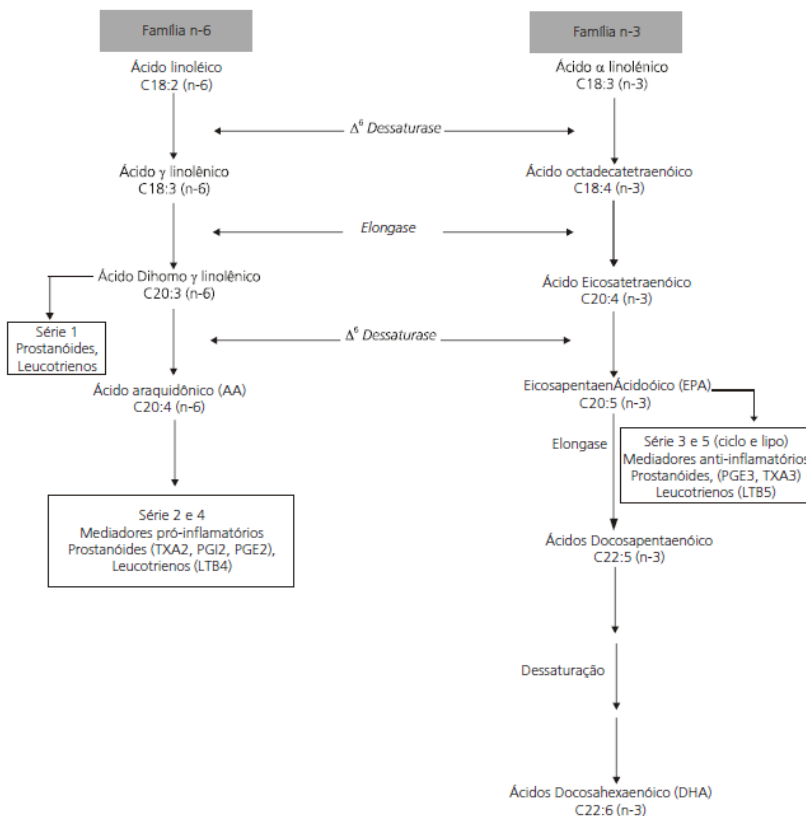


Fonte: GARÓFOLO, 2006.

Algumas das funções dos ácidos graxos das famílias n-3 e n-6 podem ser relacionadas à sua conversão enzimática em eicosanóides. Estes são considerados importantes mediadores e reguladores da inflamação e resposta imunológica, estando relacionados também na agregação plaquetária, no crescimento e na diferenciação celular (HARDMAN, 2004; CALDER, 2009). O AA ou o EPA e DHA são mobilizados da membrana celular pela ação das enzimas fosfolipases, especialmente fosfolipase A₂ e C, e subsequentemente metabolizados pelas ciclooxigenases (COX) ou lipooxigenases (LOX) em prostaglandinas (PGs), tromboxanas (TXs) e leucotrienos (LTs) (ROYNETTE, 2003).

O AA é precursor de PGs e TXs de série 2 e LTs de série 4 (Figura 4), os quais tendem a ter um alto potencial pró-inflamatório e proliferativo (HARDMAN, 2004; CALDER, 2009).

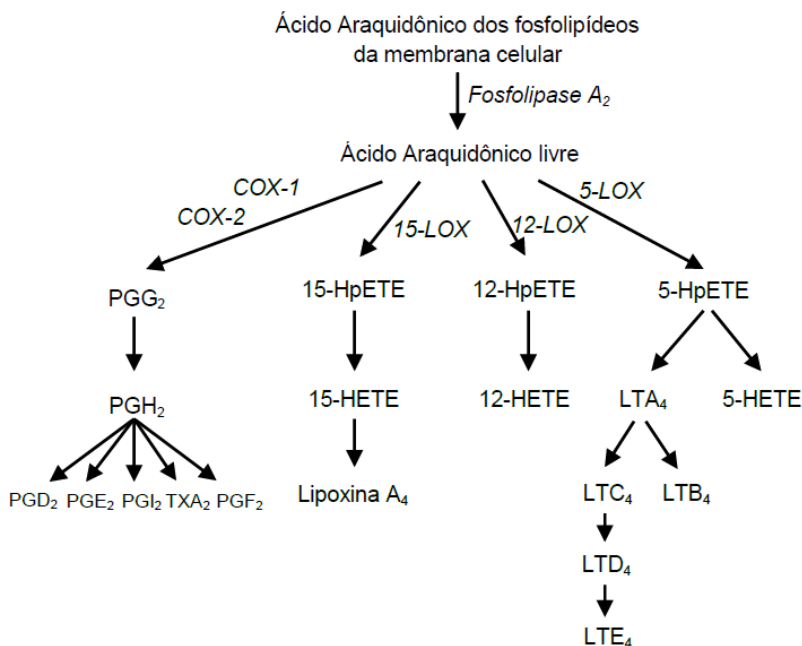
Figura 3. Esquema da via de biossíntese dos ácidos graxos das famílias n-3 e n-6



Fonte: GARÓFOLO; PETRILLI, 2006.

Abreviações: TX- tromboxanos; PG- prostaglandinas; LT leucotrienos.

Figura 4. Esquema da síntese de eicosanoides derivados de AA

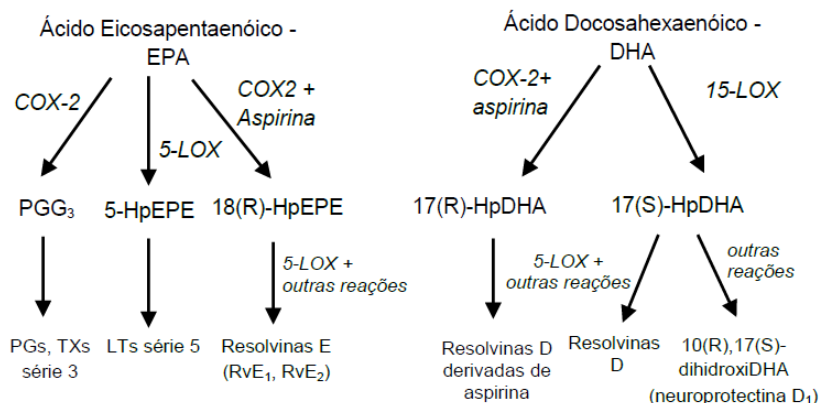


Fonte: Traduzido de CALDER, 2010.

Abreviações: COX, ciclo-oxigenase; HETE, Ácido hidroxicieicosatetraenóico; HpETE, Ácido hidroxiperoxicieicosatetraenóico; HpEPE, ácido hidroxiperoxicieicosapentaenóico.

O EPA e DHA são precursores de PGs e TXs de série 3 e LTs de série 5, os quais possuem um médio efeito inflamatório e proliferativo, sendo menos favoráveis ao desenvolvimento e ao crescimento de células cancerosas. EPA também é precursor de mediadores lipídicos denominados resolvinas de série E, assim como DHA é precursor de mediadores lipídicos denominados resolvinas e protectinas de série D. Ambos são mediadores lipídicos com potencial anti-inflamatório e de resolução da inflamação (Figura 5) (HARDMAN, 2004; CALDER, 2010).

Figura 5. Esquema da síntese de eicosanoides derivados de EPA e DHA



Fonte: Traduzido de CALDER, 2010.

Abreviações: COX. ciclo-oxigenase; HETE, ácido hidroxi-eicosatetraenóico; HpETE, ácido hidroxiperoxi-eicosatetraenóico; HpEPE, ácido hidroxiperoxi-eicosapentaenoico; HpDHA, ácido hidroxiperoxi; LOX, lipoxigenase; LT, leucotrieno; PG, prostaglandina; TX, tromboxano.

2.4.2 Consumo e incorporação de ácidos graxos poli-insaturados na membrana celular

O ALA está presente em diversos tipos de óleos vegetais como soja, linhaça, canola e ainda em vegetais de folhas verdes escuras. EPA e DHA, além de serem sintetizados a partir do ALA, podem ser fornecidos por alimentos ou suplementos que os contenham como, carnes de peixes ou óleos derivados de peixe comercializados em diferentes formas (ARTEMBURN; HALL; OKEN, 2006).

A quantidade de AGPI n-3, assim como a proporção EPA: DHA, contida nos peixes varia de acordo com a espécie, sua alimentação e temperatura da água em que habitam, assim como o modo de preparo para consumo. Por exemplo, uma porção média (80 a 100g) de salmão ou cavala poderá oferecer cerca de 1,5 a 3g de ácidos graxos n-3, já uma porção média de bacalhau, poderá oferecer de 0,2 a 0,3g de ácidos graxos n-3 (CALDER, 2012). Os ácidos graxos n-3 estão em maior proporção nos peixes de água fria e gordurosos e os que possuem maior quantidade de EPA e DHA são: salmão, arenque, sardinha, truta, cavala, atum, entre outros (ROYNETTE et al., 2004).

Segundo as recomendações das *Dietary Reference Intakes* (DRI's), a ingestão adequada para adultos saudáveis é de 1,6 e 1,1 g/dia de AGPI n-3 para homens e mulheres, respectivamente. Sendo que deste total, 10% deve ser de EPA e DHA. Como os AGPI n-6 e n-3 competem pelas mesmas vias bioquímicas, é importante a recomendação de uma razão de 5:1 a 10:1 para adultos (*INSTITUTE OF MEDICINE*, 2005). A orientação da *World Health Organization* (2003) para prevenção de doenças crônicas, é um consumo regular de peixes duas vezes por semana, considerando que cada porção deverá fornecer de 200 a 500 mg de EPA e DHA juntos.

Após digestão e absorção os AGPI poderão ser destinados para armazenamento de energia, unidades estruturais de membranas ou produção de eicosanoides (ARAB, 2003). Quando houver incorporação dos AGPI n-3 às membranas celulares, poderá ocorrer redução da resposta inflamatória com consequentes mudanças de eicosanoides produzidos (HARDMAN, 2004; CALDER, 2009). A ingestão de n-3 reduz a proporção de AA na membrana celular e consequentemente diminui a produção de eicosanoides provenientes do AA e aumenta a produção dos provindos do EPA (CALDER, 1997). O armazenamento de AGPI n-3 é limitado, o que implica na necessidade de um fornecimento contínuo ofertado pela dieta ou suplementos, sendo que mediante suplementação, EPA e DHA são rapidamente incorporados nos fosfolipídios das membranas plasmáticas de diversos tecidos e células (ARTERBURN; HALL; OKEN, 2006). Farhman e colaboradores (2013) ao realizarem um estudo clínico piloto com indivíduos com LLC, suplementados com n-3 com dose inicial de 2,4 g/dia e aumentada gradualmente até 7,2 g/dia durante 12 meses, observaram um aumento de EPA e DHA nos fosfolipídios plasmáticos correspondentes à dose. Raatz e colaboradores (2013) apresentaram resultados semelhantes quando realizaram um estudo de intervenção dietética aumentando gradativamente porções de peixes em indivíduos saudáveis. Os autores observaram que conforme a porção de peixe foi aumentada na dieta, as concentrações de EPA e n-3 aumentaram na incorporação de fosfolipídios plasmáticos e de n-6 diminuiu. Alguns estudos relacionam a incorporação à dose-dependente e colocam que a incorporação máxima pode ocorrer em três semanas de suplementação diária, como observado em um estudo com suplementação diária de 1,2 a 2,4 g de EPA em oito voluntários saudáveis. Os pesquisadores encontraram um grau de incorporação máximo de EPA no plasma, plaquetas, linfócitos, neutrófilos e monócitos em duas semanas após início da suplementação (GIBNEY; HUNTER, 1993). Read e

colaboradores (2007) observaram resultado similar ao suplementarem indivíduos com câncer de colo retal em quimioterapia com 2,18 g de EPA e 0,92 g de DHA. A incorporação máxima em fosfolipídios plasmáticos foi vista na terceira semana e a concentração se manteve constante até o final do estudo.

O consumo de AGPI, assim como os processos de digestão, absorção e metabolismo podem ser verificados por biomarcadores de curto prazo, como níveis plasmáticos ou séricos de ácido graxos isolados e ésteres de colesterol ou fosfolipídios; de médio prazo, com membranas de eritrócitos e de longo prazo, como utilização do tecido adiposo (CANTWELL, 2000; ARAB, 2003). A análise da composição lipídica por ensaio cromatográfico tem sido comumente utilizada para este fim e sido amplamente utilizada em estudos mostrando uma boa correlação com a ingestão dietética (POPPITT et al., 2005; DAMSGAARD; FROKIAER; LAURITZEN, 2008).

2.4.3 Implicações dos AGPI n-3 sobre estado nutricional e estresse oxidativo no câncer

O conteúdo dos ácidos graxos da dieta tem mostrado diversas implicações biológicas e o consumo de AGPI n-3 vem sendo relacionado à redução na incidência de doenças cardiovasculares, inflamatórias e câncer, além de estar associado ao tratamento do câncer (PISBARRO, 2006; OLIVEIRA; SIMAS, SANTOS, 2004; KALISH; FALLON; PUDER, 2012).

Acredita-se que a alta ingestão de produtos marinhos pelos esquimós, assim como pelos japoneses e populações do Alasca e Groelândia, proporciona efeito protetor contra o câncer, devido ao consumo elevado de ácidos graxos n-3, como o EPA e o DHA (CURI, 2002). Fritschi e colaboradores (2004) ao utilizarem dados de um estudo caso-controle de base populacional realizado entre 1994 e 1998, com dados disponíveis da dieta de 919 casos de leucemia, 287 casos de mieloma, 1418 casos de LNH e 4.202 controles, observaram uma associação entre maior consumo de peixe fresco e efeito protetor para todas as neoplasias do estudo.

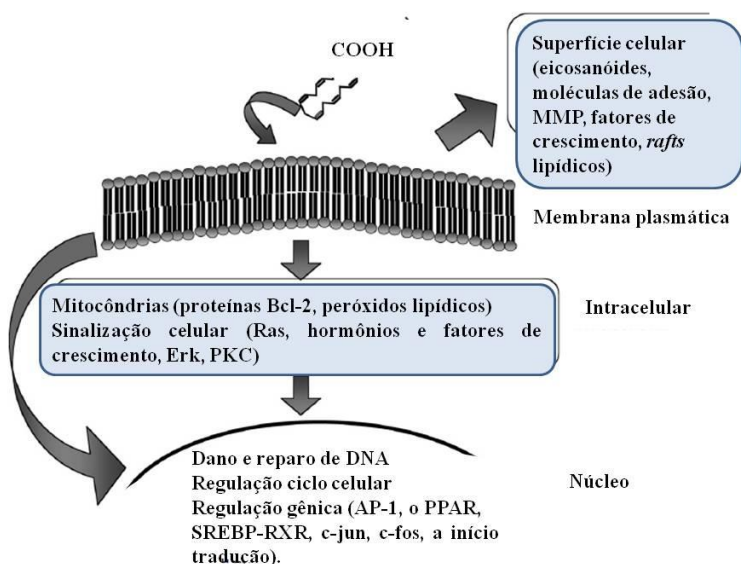
Além do efeito protetor, alguns estudos sugerem a utilização de AGPI n-3 como suplemento adjuvante à terapia antineoplásica. O termo "suplemento" é tipicamente referido a compostos que podem ser utilizados juntamente com medicamentos no tratamento de doenças com o objetivo de levar a um melhor resultado global ou a uma redução dos efeitos secundários indesejados do fármaco principal (YUEN; FUNG;

2009). Barber e colaboradores (1999) ofereceram um suplemento nutricional enriquecido com 1,1g de EPA e 0,46g de DHA a indivíduos com câncer pancreático e observaram que estes quando comparados aos indivíduos controles, tiveram um aumento no peso, com média de 1 kg. Vaughan, Hassing e Lewandowski (2013) realizaram uma revisão de estudos clínicos e observacionais com diversos tipos de câncer sobre a atuação dos AGPI na terapia antineoplásica. Com base nos resultados encontrados, concluíram que o uso de suplementos contendo EPA e DHA pode exercer um potencial efeito adjuvante no tratamento quimioterápico e pode ajudar a melhorar algumas das complicações secundárias associadas ao câncer. Os autores também sugeriram que a suplementação de óleo de peixe com dose superior a 3 g/dia ou de EPA/DHA com dose de EPA superior a 1g/dia e de DHA maior do que 0,8 g/dia esteja associada a desfechos clínicos positivos.

A utilização do óleo de peixe como suplemento tem sido associada à prevenção e tratamento de diversos tipos de câncer, sendo o efeito dos AGPI n-3 relacionado com a melhora ou manutenção do estado nutricional e com a maior eficácia da quimioterapia, sugerindo um potencial adjuvante para o tratamento das complicações secundárias associadas ao câncer (FEARON et al., 2006; MURPHY, et al., 2011; VAN DER MEIJ et al., 2012; VAUGHAN; HASSING; LEWANDOWSKI, 2013). Com a finalidade de promover estas melhorias aos pacientes com câncer, alguns estudos utilizaram a suplementação com óleo de peixe, como de Murphy e colaboradores (2011) que ofereceram 2,5 g EPA + DHA/dia a indivíduos com câncer de pulmão em quimioterapia e puderam observar que os indivíduos suplementados em relação aos controles, responderam melhor à quimioterapia e tiveram benefícios clínicos como manutenção do peso corporal e de massa livre de gordura. Bonatto e colaboradores (2012) encontraram resultados semelhantes ao oferecerem 2 g/dia de óleo de peixe durante oito semanas a indivíduos pós-ressecção tumoral de diversos locais, durante quimioterapia. Da mesma maneira que Silva e colaboradores (2012) quando também suplementaram 2 g/dia de óleo de peixe durante nove semanas a indivíduos com câncer colo retal em quimioterapia. Neste mesmo estudo, os autores puderam observar que os níveis séricos de PCR foram menores no grupo suplementado com média de 3,4 mg/L em comparação com 13,0 mg/L no grupo controle. Corroborando com este resultado, Mocellin e colaboradores (2013), mostraram que a proporção de PCR/albumina pôde ser significativamente reduzida com a suplementação de 2 g/dia de óleo de peixe durante 9 semanas em pacientes com câncer colo retal.

Diversos mecanismos podem estar envolvidos nos possíveis impactos dos AGPI n-3 sobre os diferentes estágios do câncer. Os mecanismos investigados geralmente estão relacionados com apoptose, proliferação e sinalização celular, angiogênese, regulação gênica e metástase, exemplificados na Figura 6. Yamamoto e colaboradores (1999) mostraram em células de câncer de mama que EPA aumentou a expressão de proteínas pró-apoptóticas e diminuiu a expressão de proteínas anti-apoptóticas.

Figura 6. Possíveis mecanismos envolvidos na relação dos AGPI n-3 e câncer.



Fonte: Traduzido e adaptado de BARACOS, 2004.

Abreviações: MMP, matriz metalaproteinase; ERK, cinase regulada por sinal extracelular; PKC, proteína cinase; AP-1, ativador proteico-1; PPAR, receptor ativado por proliferador de peroxissoma; SREBP, proteína de ligação a elemento regular de esterol; RXR, receptor do retinóide X.

Embora os possíveis impactos da suplementação com óleo de peixe sobre diversos tipos de câncer já tenham sido estudados, até então, são poucos os que realizaram estudos *in vivo* com a suplementação em indivíduos com neoplasias hematológicas. Os estudos realizados

apresentavam uma amostra pequena, inviabilizando a utilização dos dados na prática clínica (BURNS et al., 1999; LAVIANO; MUSCARITOLI; ROSSI FANELLI; 2005). Porém, os possíveis impactos dos AGPI n-3 sobre as células leucêmicas foram demonstrados em alguns estudos *in vitro*, apresentados no Quadro 1. A maioria dos estudos mostrou como resultado principal a indução da apoptose pelos ácidos graxos EPA e DHA. Alguns estudos foram realizados em animais como o de Ogilvie e colaboradores (2000), com 32 cães com linfoma linfoblástico em tratamento utilizando doxorubicina. Os cães foram randomizados em dois grupos, para receber dieta com óleo de peixe e arginina como grupo suplementado, e para receber a mesma dieta, porém com óleo de soja, como grupo controle, durante 12 meses. O grupo suplementado apresentou níveis séricos de EPA e DHA aumentados associados à normalização das concentrações elevadas de ácido láctico sanguíneo. Também foi observada uma associação entre DHA sérico e maior intervalo livre de doença e sobrevida. Resultados semelhantes foram vistos em estudo com modelo de linfoma agressivo de linfócitos T, realizado por Johansson e colaboradores (2010). Camundongos que foram suplementados por 12 meses com óleo de peixe, apresentaram um retardo na progressão da doença, menor probabilidade de morte e maior tempo livre de sintomas, em relação ao grupo controle.

Quadro 1. Estudos *in vitro* relacionados à suplementação de AGPI EPA e DHA em linhagens de células leucêmicas.

Autor	Delineamento	Objetivos	Resultados
SIDIQQUI et al., 2001	Estudo <i>in vitro</i> com células leucêmicas Jukart incubadas com 60 e 90 microM de DHA por 48 e 24 h respectivamente.	Investigar os efeitos celulares e moleculares de DHA.	DHA causou a indução da apoptose nas células Jukart.

Continuação Quadro 1. Estudos *in vitro* relacionados à suplementação de AGPI EPA e DHA em linhagens de células leucêmicas.

Autor	Delineamento	Objetivos	Resultados
CHIU, WONG e OOI, (2004).	Estudo <i>in vitro</i> com células leucêmicas HL-60 incubadas com DHA a partir da microalga enriquecida <i>Cryptocodinium cohnii</i> (ADHA)	Investigar a função do DHA (enriquecido com ADHA) no controle do crescimento celular e o seu mecanismo nas células HL-60 de leucemia promielocítica humana.	DHA (enriquecido com ADHA) induziu o controle do crescimento celular e apoptose nas células HL-60 de leucemia promielocítica humana.
YAMAGAMI et al., (2009)	Estudo <i>in vitro</i> com células KG1 - tipo indiferenciado de leucemia mieloide aguda - incubadas com DHA por 96 h.	Investigar o efeito do DHA sobre as células KG1 com o objetivo de explorar o potencial deste ácido graxo como terapia adjuvante para LMA.	Viabilidade diminuída progressivamente . Fragmentação do DNA nas células tratadas com DHA e aumento da expressão de Anexina V, demonstrando que DHA induziu essas células à apoptose. Maior expressão da proteína Bax e aumento da razão Bax/bcl-2.

Continuação Quadro 1. Estudos *in vitro* relacionados à suplementação de AGPI EPA e DHA em linhagens de células leucêmicas.

Autor	Delineamento	Objetivos	Resultados
CECCARELLI et al., (2011)	Estudo <i>in vitro</i> com células leucêmicas pró-monocíticas U937 incubadas com diversos AGs, e dentre eles, EPA e DHA por 24 h.	Explicar os mecanismos moleculares pelos quais os AGPI afetam os processos de proliferação e diferenciação das células leucêmicas.	EPA foi o ácido graxo com maior influência na diminuição da progressão do ciclo celular, promoveu a expressão de proteínas ligadas a fatores de transcrição e genes específicos da linhagem mieloide e suposta influência sobre moléculas que controlam a expressão de genes supressores de células neoplásicas.
ALTENBURG , et al.. (2011)	Estudo <i>in vitro</i> com células de leucemias linfoblásticas agudas de células T incubadas com DHA ou DIP ou com DIP-DHA.	Observar os efeitos do DIP ou DHA e de DIP-DHA em linhagens de células leucêmicas.	DIP-DHA resultou em maior inibição da proliferação e indução da apoptose do que DIP ou DHA isolados.

Abreviaturas: AGPI: ácidos graxos poli-insaturados; EPA: ácido graxo eicosapentaenoico, DHA: ácido graxo docosahexaenóico. GLA- ácido γ -linolênico, 2,6-di-isopropilfenil-docosahexaenoamide (DIP-DHA).

A implicação do uso dos AGPI n-3 no tratamento do câncer surgiu com estudos em animais e *in vitro*, que sugeriram uma potencial interação entre os AGPI n-3 e quimioterápicos. Os AGPI n-3 foram mostrados como possíveis responsáveis por aumentar a morte das células neoplásicas induzida por quimioterapia e também por reduzir os efeitos colaterais do tratamento quimioterápico nos indivíduos com câncer (BARBER; FEARON, 2001; ROSS; FEARON, 2002). Recentemente um estudo realizado por Fahrman; Hardman (2013) mostrou que o óleo de peixe aumentou a quimio-sensibilidade de células neoplásicas ao tratamento quimioterápico com doxorrubicina, vincristina e fludarabina, mostrando aumento de peroxidação lipídica (marcador de estresse oxidativo), aumento da produção de ERO e aumento de apoptose. Hajjaji e Bougnoux (2013) em uma revisão mostraram que DHA e EPA aumentaram a citotoxicidade de 15 fármacos em variadas linhagens celulares de câncer e em modelos animais. Dentre as diferentes neoplasias estavam câncer de mama, de próstata, colo do útero, ovário, pulmão, neuroblastomas, cólon, leucemias e linfomas. Estes estudos também mostraram que esta quimio-sensibilidade não ocorreu em células normais, sugerindo que o efeito desses lipídeos é seletivo às células neoplásicas.

Os estudos sugerem que os lipídeos contendo ácidos graxos DHA e EPA, podem sensibilizar células cancerígenas ou tumores a fármacos antineoplásicos, preservando ou mesmo protegendo tecidos saudáveis. Esta abordagem explora alterações bioquímicas das células neoplásicas, sendo uma delas a sensibilidade ao estresse oxidativo (BARACOS; MAZURAK; MA; 2004; HAJJAJI; BOUGNOUX, 2012). O estresse oxidativo é fundamental na apoptose e muitos quimioterápicos agem induzindo o aumento de ERO, como por exemplo, os fármacos citados no parágrafo anterior. Alguns estudos sugerem que a suplementação de EPA e/ou DHA pode aumentar a citotoxicidade dos fármacos nas células neoplásicas com um aumento dos marcadores de estresse oxidativo (BAUMGARTNER et al., 2004; BIONDO et al., 2008; STURLAN et al., 2003; VAUGHAN; HASSING; LEWANDOWSKI, 2013). Há aproximadamente 30 anos atrás, Guffy e colaboradores (1984), já haviam mostrado em um estudo *in vitro*, que a administração de DHA melhorou a captação de doxorrubicina em células L1210 de leucemia murina e também aumentou o dano oxidativo. Merendino e colaboradores (2013) em uma revisão sobre AGPI DHA ser utilizado como potencial adjuvante no tratamento do câncer, concluíram com base na literatura, que DHA parece ter uma capacidade para inibir metástase assim como invasão e migração

tumoral, tanto em estudos *in vivo* como *in vitro*. Além de relatarem que a associação de DHA com o tratamento quimioterápico parece aumentar a citotoxicidade dos fármacos, permitindo que as células neoplásicas mantenham os níveis elevados de ERO, impedindo dessa forma a resistência ao tratamento, reduzindo as defesas antioxidantes endógenas e aumentando a absorção dos fármacos.

Os efeitos dos AGPI n-3 sobre diversos tipos de câncer são variados e relacionam a possível melhora/manutenção do estado nutricional e interação com os quimioterápicos. É considerado que os AGPI n-3 podem ser responsáveis por um aumento na morte celular induzida pela quimioterapia, atuando sobre o aumento de ERO. No entanto, até o presente momento, não foram realizados estudos relacionando a suplementação de óleo de peixe à carbonilação proteica e aos marcadores de lesão celular plasmáticos em indivíduos com neoplasias hematológicas durante tratamento quimioterápico. Dessa forma, esse estudo objetiva avaliar os possíveis impactos desta relação, assim como elucidar os potenciais efeitos da suplementação do óleo de peixe sobre o estado nutricional destes indivíduos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar possível modulação do óleo de peixe sobre estado nutricional e estresse oxidativo em indivíduos com neoplasias hematológicas durante tratamento quimioterápico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar em pacientes com leucemias e linfomas em tratamento quimioterápico, suplementados ou não, com 2g/dia de óleo de peixe durante nove semanas, antes e após suplementação:

- O perfil de ácidos graxos plasmáticos nos grupos de estudo;
- Concentrações séricas de proteínas de fase aguda (Proteína C-reativa e albumina);
- Carbonilação proteica;
- Marcadores de lesão celular plasmáticos (atividade enzimática da Creatina cinase e Desidrogenase láctica).
- Hemograma
- Indicadores do estado nutricional (Índice de Massa Corporal; Adequação da Circunferência Muscular do Braço e da Dobra Cutânea Tricipital; Índice de Risco Nutricional; Índice de Prognóstico Nutricional e Inflamatório).

4 MATERIAS E MÉTODOS

4.1 INSERÇÃO DO ESTUDO

O presente estudo está inserido no Grupo de Pesquisa em Imunonutrição e Metabolismo, coordenado pelos professores Everson Araújo Nunes, Dr. e Erasmo B. S. de Moraes Trindade, Dr. e integrado por alunos do Programa de Pós Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O presente estudo é derivado de projeto inicial responsável por originar entre os anos de 2011 e 2014, outros quatro estudos intitulados: “Avaliação da proporção linfocitária (Th1,Th2 e Tc) e interleucina 1B em indivíduos não tratados com diagnóstico de neoplasias hematológicas”; “Parâmetros de funcionalidade de células mononucleares, de estresse oxidativo, proteínas de fase aguda e estado nutricional de indivíduos portadores de neoplasias hematológicas antes do tratamento quimioterápico”; “Estado nutricional e suas relações com populações de linfócitos T e marcadores inflamatórios em indivíduos com diagnóstico recente de neoplasias hematológicas malignas” e “Efeito da suplementação com óleo de peixe sobre o estado nutricional e marcadores inflamatórios em pacientes com neoplasias hematológicas durante a quimioterapia”.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

Ensaio clínico – fase I, controlado e randomizado.

4.3 AMOSTRA DO ESTUDO

A amostra foi determinada por conveniência e saturação temporal, constituída por indivíduos atendidos ambulatorialmente ou internados no setor de onco-hematologia do Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Universitário, Trindade, Florianópolis, Santa Catarina (SC), entre o período de novembro de 2012 a dezembro de 2013, que estavam aptos a iniciar o primeiro ciclo de quimioterapia. Como critérios de inclusão os indivíduos deveriam possuir idade ≥ 19 anos, apresentar diagnóstico de leucemias ou linfomas, estar aptos a iniciar tratamento quimioterápico e apresentar adequadas condições de ingestão via oral. Os critérios de exclusão estabelecidos para os indivíduos foram idade inferior a 19 anos, estar em tratamento com estatinas e/ou algum fármaco anti-inflamatório não-esteroidal, possuir diagnóstico de doença

infectocontagiosa, apresentar alergia a peixes e/ou derivados, ter feito uso de óleo de peixe e/ou outro suplemento contendo ácidos graxos ômega-3 previamente ao período do estudo (três meses) e estar em período gestacional.

A equipe médica teve o conhecimento dos critérios supramencionados e auxiliou na triagem dos candidatos a participar do estudo. Os pacientes aptos foram encaminhados às nutricionistas responsáveis pela pesquisa, que os apresentaram a proposta de pesquisa e efetuaram o convite de participação. Foram consideradas perdidas todos os pacientes elegíveis, ou seja, que se enquadraram nos critérios de inclusão e não apresentaram característica de exclusão, mas que se recusaram a participar do estudo.

4.4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto inicial, responsável por originar esse, foi enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFSC e consta como aprovado (parecer número 108.360). Após a aprovação, o projeto foi submetido à plataforma Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br/>), número de registro RBR – 7q6cqq. Todos os participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A) conforme com a Declaração de Helsinki (2008).

4.4.1 Confidencialidade

O pesquisador assegurou que o caráter anônimo dos pacientes fosse mantido e que suas identidades seriam protegidas de terceiros não autorizados. As fichas clínicas, bem como os formulários de Termo de Consentimento assinados pelos pacientes foram mantidos pelo pesquisador em confidência estrita, juntos em um único arquivo. Os pacientes receberam uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, e a pesquisa respeitou os princípios emanados na Resolução 196 de 1996 do Conselho Nacional de Saúde.

4.5 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Para o projeto inicial, responsável por originar o presente estudo, os indivíduos participantes foram randomizados em grupo suplementado (GS) e grupo não suplementado (GNS) com o auxílio da ferramenta online *Research Randomizer* (<http://www.randomizer.org/>).

O método escolhido foi em blocos, para permitir que a distribuição randômica forneça amostras igualmente distribuídas entre os grupos. Foram randomizados 120 números distribuídos em 20 blocos de seis pacientes cada um. Em cada bloco, os pacientes receberam aleatoriamente um número entre 1 e 6, sendo que os números pares foram alocados no GNS e os números ímpares no GS.

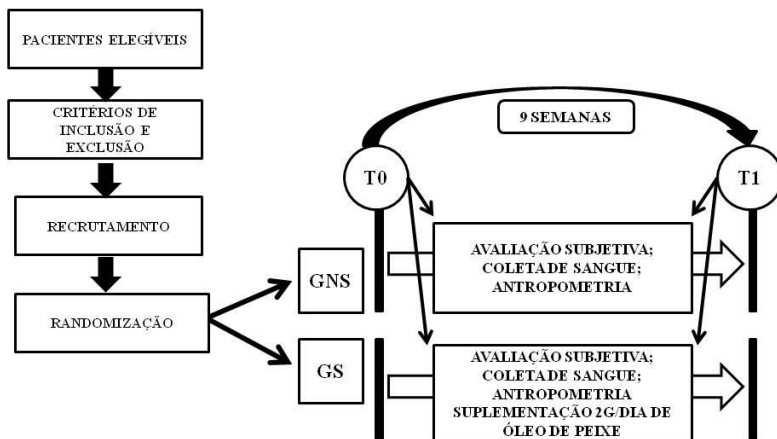
O GS recebeu suplementação de óleo de peixe durante nove semanas, na posologia experimental de 2 gramas/dia (g/d), o que corresponde a ingestão diária de 2 cápsulas de óleo de peixe de 1000 mg cada. A ingestão das cápsulas de óleo de peixe foi registrada diariamente pelos participantes, e ao final do estudo, estes registros, bem como, os frascos de armazenamento das cápsulas foram devolvidos aos pesquisadores (APÊNDICE B).

Os momentos do estudo foram assim caracterizados:

- Momento basal (T0): momento inicial do estudo, caracterizado pela identificação de todos os pacientes, avaliação subjetiva (realizada pelos pesquisadores que contemplavam algumas questões clínicas, xerostomia, falta de apetite, náusea, vômito, disgeusia, diarreia e distensão abdominal, que o paciente relatava apresentar ou não), assim como avaliações antropométricas e coleta de sangue. Os pacientes alocados no GS receberam as cápsulas de óleo de peixe e as orientações de consumo (Apêndice B), tanto verbalmente como impressas;
- Momento final (T1): após nove semanas de estudo, caracterizado pela repetição da avaliação subjetiva, das avaliações das variáveis antropométricas e coletas de sangue e o término da ingestão das cápsulas de óleo de peixe pelos indivíduos pertencentes ao GS.

O delineamento do estudo está ilustrado na figura 7. O pesquisador e colaboradores mantiveram contato presencial com os pacientes em análise (quando eles se dirigiam ao HU para tratamento quimioterápico ou em período de internação) ou via ligação telefônica, se necessário, durante todo o período de acompanhamento, visando suporte assistencial adequado.

Figura 7. Delineamento do estudo.



Fonte: o autor

4.6 CARACTERIZAÇÃO DO SUPLEMENTO NUTRICIONAL DO ÓLEO DE PEIXE

A suplementação do óleo de peixe foi realizada por meio do consumo de 2 cápsulas de 1000 mg por dia. Duas cápsulas fornecem 17 quilocalorias, contendo 0,7 g de gordura saturada, 0,5 g de gordura monoinsaturada, 0,8 g de poli-insaturada, dentre estes, 610 mg de EPA + DHA e 4,0 mg de colesterol, conforme informado na tabela 1. O óleo é extraído de salmão, cavalinha e sardinha, e as cápsulas são constituídas por gelatina e glicerina. O produto é registrado no Ministério da Saúde na categoria de alimento com o número: 6.2358.0006.001-4.

Foi realizada a análise por cromatografia líquida de alta eficiência do óleo de peixe que apresentou em sua composição para cada 1g de cápsula, a seguinte proporção (%) de ácidos graxos: Láurico – 2,64 / Mirístico – 13,83 / Palmítico – 14,47 / Esteárico – 1,88 / Oleico – 10,06 / Araquidônico – 10,95 / Linoleico – 3,75 / Alfa-linolênico – 0,64 / Eicosapentaenoico – 24,66 / Docosahexaenóico – 17,12.

Tabela 1. Informação nutricional das cápsulas de óleo de peixe.

Informação Nutricional	
Dose suplementação - 2g (2 cápsulas)	
Valor Energético	17,2 kcal
Gorduras Totais	2,0 g
Gord. Saturadas	0,6 g
Gord. Monoinsaturadas	0,5 g
Gord. Polinsaturadas	0,8 g
Ômega 3	610 mg
- Ác. Eicosapentaenoico – EPA	367 mg
- Ác. Docosahexaenóico – DHA	243 mg
Colesterol	4,0 mg
Sódio	4,0 mg
Não contém quantidade significativa de carboidratos, proteínas, gorduras trans e fibra alimentar.	
Óleo extraído de peixes: salmão, cavalinha e sardinha	

Fonte: Adaptado da ficha técnica do óleo de peixe encapsulado – PHYTOMARI® Indústria e Comercio Ltda.

4.7 COLETA DE DADOS

4.7.1 Caracterização dos pacientes

Os indivíduos da amostra foram identificados através do preenchimento de um formulário (APÊNDICE D) de cadastro previamente elaborado para a pesquisa, contemplando as seguintes informações:

- Dados pessoais: nome completo, sexo, data de nascimento, procedência, endereço residencial, telefone, e-mail, e número do prontuário no HU;
- Dados clínicos: tipo de neoplasia hematológica, estadiamento, fármacos utilizados, protocolo quimioterápico, comorbidades associadas e doenças prévias;
- Hábitos de vida: consumo de bebida alcoólica, uso de tabaco e prática de atividade física;

- Avaliação subjetiva dos sinais e sintomas apresentado pelo indivíduo e auto avaliação da sua capacidade funcional.

4.7.2 Coleta e preparo do material biológico

O procedimento de coleta foi realizado por profissionais capacitados da divisão de análises clínicas, seguindo o protocolo do HU/UFSC. Os pacientes em atendimento ambulatorial compareceram ao laboratório do HU/UFSC, pela manhã, das 7h30 às 9h30, preferencialmente descansados, em jejum de 8 a 12 horas. Quando internados a coleta para a pesquisa ocorreu nas clínicas de internação por volta das 7h30, em conjunto com a coleta destinada aos exames de rotina. Foi solicitado aos pacientes permanecerem em jejum de 8 a 12 horas. Quando atendidos no setor de emergência a coleta foi realizada neste mesmo setor.

A amostra sanguínea foi coletada em um tubo de 5 ml (Sistema 19 Vacutainer[®] BD Biosciences - Abingdon, RU), com ativador de coágulo e gel separador, o qual ficou no HU/UFSC para análise da Proteína C-reativa e albumina. Também foi coletado sangue em dois tubos heparinizados (sistema Vacutainer[®] BD Biosciences - Abingdon, UK) com capacidade de 10 mL cada, os quais foram para o Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas (LIDoC) / UFSC - (<http://lidoc.ccb.ufsc.br/>). Estes, após centrifugação, tiveram parte do plasma separado e congelado a -80°C para posterior realização da análise do perfil de ácidos graxos plasmáticos no plasma, da carbonilação de proteínas e das atividades da creatina cinase e desidrogenase láctica.

4.7.3 Coleta de dados antropométricos

Os dados antropométricos consistiram em peso atual, peso usual, estatura, circunferência do braço e dobra cutânea tricipital.

O peso atual foi aferido em balança eletrônica de plataforma com capacidade máxima de 150 kg e escala de 100 g, da marca Toledo[®] (Toledo do Brasil, São Bernardo do Campo, SP, Brasil). A estatura foi aferida com régua antropométrica, acoplada à balança citada anteriormente, com capacidade de aferição máxima de 2 m e escala de 1 mm. O indivíduo avaliado se posicionou em pé na posição ereta no centro da plataforma, pés afastados à largura do quadril, com o peso dividido em ambos os pés, com a cabeça posicionada de forma que a

linha da visão fosse perpendicular ao corpo, inspirando profundamente no momento da aferição (WHO, 1995). O peso usual, foi auto referido.

Para localização do ponto médio do braço, onde é medida a circunferência do braço (CB), esse foi flexionado em 90° com a palma virada para cima, e marcado o ponto médio entre o acrômio e o olécrano. Com auxílio de fita métrica inelástica TBW® (São Paulo, SP, Brasil) com precisão de 1mm, o indivíduo estava em posição ereta, com os braços soltos e as palmas viradas para a perna, e então foi aferida a circunferência do ponto marcado (WHO, 1995). A dobra cutânea tricipital (DCT), foi aferida no ponto médio do braço, na parte posterior, sobre o músculo do tríceps, com os braços do indivíduo soltos ao lado do corpo (WHO, 1995). O compasso utilizado foi o Lange Skinfold Caliper® (Beta Technology Incorporated, Santa Cruz, Califórnia, EUA) modelo Sahean SH 5020, com precisão de 1mm. As medidas de circunferência e dobras cutâneas foram feitas em triplicata, e na divergência de resultados, calculada a média aritmética. O valor da circunferência muscular do braço (CMB) foi calculado através da fórmula proposta por Gurney e Jelliffe (1973): $CMB\ (cm) = CB\ (cm) - (\pi \times DCT\ (mm) / 10)$.

4.8 ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, HEMATOLÓGICOS E ANTROPOMÉTRICOS

4.8.1 Determinação da composição de ácidos graxos plasmáticos

Para avaliar a incorporação dos ácidos graxos no plasma, após a suplementação com óleo de peixe, o perfil de ácidos graxos plasmáticos foi determinado por cromatografia líquida de alta performance (do inglês - *High Performance/Pressure Liquide Chromatography* - HPLC), segundo Nishiyama-Naruke et al., (1998).

4.8.1.1 Extração lipídica

Foi utilizada uma adaptação da metodologia descrita por Folch et al (1957). Inicialmente homogeneizados 100µl de plasma com 1,33ml de Clorofórmio- metanol ($CHCl_3$ / MeOH) (2:1) logo após adicionado de 240µl de metanol centrifugado por 10 minutos, 5000 ×g, 4°C, transferido o sobrenadante para um novo tubo de 5 ml e desprezando o infranadante. Realiza-se novamente uma lavagem com a adição de 480 µl de $CHCl_3$ (clorofórmio) e 410 µl de água destilada. A amostra foi agitada e depois descansada por 10 minutos e após a reconstituição

espontânea do sistema bifásico, o sobrenadante (aquoso) foi removido e descartado. Lavou-se três vezes com alíquotas de 1 ml da FSP (Solução de Folch – Fase Superior Pura Suplementada). Cada amostra foi agitada e centrifugada e, após o descarte da fase superior (hidrometanólica), a fase orgânica foi evaporada com nitrogênio gasoso.

4.8.1.2 Saponificação dos extratos lipídicos

Os extratos lipídicos obtidos foram ressuspensos em 100 µl de metanol e saponificados com 2,0 mL de uma solução alcalina em metanol (hidróxido de sódio 1M em metanol a 90%), a 37 °C por 2 horas, em banho-maria sob agitação (NISHIYAMA-NARUKE et al, 1998). A solução alcalina foi então acidificada até aproximadamente pH 3,0, com ácido clorídrico 1 M. Os ácidos graxos em solução foram extraídos 3 vezes com 3,0 mL de hexano. O solvente foi evaporado em nitrogênio gasoso e seguidas a derivatização com BMMC (Bromo metil metoxi coumirin).

4.8.1.3 Derivatização dos ácidos graxos

A reação de derivatização foi baseada no método descrito por Abushufa, Reed e Weinkove (1994). O reagente 1 foi preparado adicionando-se 10 mg de BMMC em 10 mL de acetonitrila. O reagente 2 foi preparado adicionando-se 26,5 mg de 18-crown-6 e 100 mg de carbonato de potássio em 5 mL de acetonitrila. O reagente 2 foi sonificado por 30 minutos e outros 5 mL de acetonitrila foram adicionados. O sobrenadante foi separado do precipitado e a solução foi estocada a 4-8 °C. As amostras contendo ácidos graxos a serem derivatizadas foram reconstituídas em 100 mL de acetonitrila e homogeneizadas em vórtex. Após 30 segundos, foram adicionados nas amostras 100 µL do reagente 1, e 100 µL do reagente 2, 100µL de acetonitrila e foram homogeneizadas durante 30 segundos e aquecidas por 15 minutos a 60° C.

Após derivatização, pequenas alíquotas desta solução derivatizada, foram injetadas em um sistema HPLC, foram separados em coluna analítica de fase reversa: Sigma®- MV-C8 4,6 mm i.d.x 25 cm com partículas de 5 µm (Supelco®), A análise cromatográfica foi efetuada com um módulo de separação *Waters Alliance e2695* composto por uma bomba quaternária, desgaseificador, detector amperométrico eletroquímica (Waters, Milford, MA, EUA). Foram injetados 1,6 µL dos derivados diluídos, que foram eluídos isocraticamente através do

gradiente binário de acetonitrila e água (70-30%) em 80 minutos de corrida em temperatura de 18 à 21°C. Os compostos foram detectados fluorimetricamente pelo detector de fluorescência (2475 *multi fluorescence detector - waters*), com excitação a 325 nm e emissão a 398 nm e os dados registrados e integrados pelo *software Empower Pro Version 2.0*. Os dados foram expressos em porcentagem. Foi utilizado para a curva padrão um pool de ácidos graxos na concentração de 40 µg/ml (Láurico, mirístico, palmítico, esteárico, oleico, palmitoleico, araquidônico, linoleico, alfa-linoleico, eicosapentaenoico).

4.8.2 Determinação da concentração de proteína C-reativa e albumina

Após a coleta, o sangue, destinado à dosagem de PCR e albumina foi processado na Divisão de Análises Clínicas do HU. A PCR foi determinada pelo método de imunonefelometria que se fundamenta na determinação do movimento das partículas numa solução (turbidez), formadas pelos complexos antígeno-anticorpo (PCR ligada ao anticorpo monoclonal anti-PCR) (Siemens Dade Behring Inc., 55, Newark, DE, EUA) (LEDUE et al., 1998). A técnica fundamenta-se em partículas de poliestireno revestidas com anticorpo monoclonal de camundongo que quando colocadas contra a PCR humana formam aglutinados. Um feixe de luz incidente passa pela cubeta onde está ocorrendo a reação antígeno-anticorpo e sofre uma dispersão proporcional à concentração dos aglutinados no tubo. Este feixe de luz é detectado por sensores que o transformam em um sinal, o qual é plotado na curva de calibração e determinará a concentração de PCR da amostra na unidade desejada. A concentração de PCR na amostra é diretamente proporcional ao feixe de luz disperso e conseqüentemente ao sinal detectado pelos sensores. Limite mínimo de detecção: 0,175 mg/L (LEDUE et al., 1998).

A albumina sérica foi determinada quantitativamente pelo método colorimétrico automatizado de vermelho de bromocresol, uma adaptação do método de ligação ao corante púrpura de bromocresol (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, EUA) (LASKY et al., 1985). Foram utilizados 5 µL de soro em 125 µL do reagente 1, volume do diluente de 370 µL, na temperatura de 37°C. A concentração foi determinada por meio da leitura em ponto final policromático B em comprimento de onda de 540, 600 e 700 nm (Dimension RxL® Max®, Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Newark, DE, USA). O instrumento calcula e imprime automaticamente a concentração de albumina. Limite mínimo de detecção: 0,6 g/dL.

4.8.3 Quantificação de proteínas carboniladas

Para dosar a oxidação de proteínas foi adaptado o método descrito por Levine et al. (1990). Este método baseia-se no princípio de que os radicais livres atacam resíduos de proteínas para produzir produtos com o grupo carbonil, o qual pode ser medido através da reação com 2,4-dinitrofenilhidrazina. O plasma foi fracionado em alíquotas de 100µL e estas foram misturadas com 600µL de DNPH 10 mM (amostra) e 600µL de ácido clorídrico (HCl) 2,0 N (branco da amostra); os tubos foram mantidos à temperatura ambiente em abrigo da luz, durante 60 minutos, sendo agitados em vórtex a cada 10 minutos. Posteriormente foram adicionados aos tubos 600µL de TCA 20%, e estes mantidos sob as mesmas condições de temperatura e iluminação por 10 minutos. Em seguida foram centrifugados a 11000 ×g por 5 minutos a 4° C. O sobrenadante foi descartado, e o precipitado lavado com 800µL de etanol-acetato de etila (1:1), incubado durante 10 minutos e centrifugado a 15000 ×g por 5 minutos a 4° C. Esta etapa foi repetida por mais duas vezes. Após esse processo, foram adicionados aos tubos 900µL de solução de ureia 8M e estes colocados em banho maria em 60° C, durante 30 minutos com agitação em vórtex aos 15 e aos 30 minutos. Para finalizar, os tubos foram centrifugados a 15000 ×g por 10 minutos a 4°C, e a absorbância lida em 360 nm. Para a determinação da quantidade de proteínas totais, foram utilizados os brancos das amostras lidos em 280 nm. Para as leituras foi utilizado uma multileitora *Infinite M200 TECAN*. O conteúdo de carbonil foi calculado em nmol/mg de proteínas usando um coeficiente de extinção molar de $22.000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

4.8.4 Quantificação da atividade enzimática das enzimas creatina cinase e desidrogenase láctica

O plasma congelado a -80°C foi descongelado e submetido a testes com os kits comerciais: Desidrogenase Láctica (LDH), e Creatina cinase (CK), por método cinético, de acordo com instruções do fabricante (Biotécnica®). A LDH catalisa a conversão do piruvato a lactato na presença de NADH. O decréscimo da absorbância em 340nm devido a oxidação do NADH é proporcional à atividade da LDH na amostra. No caso da CK, esta catalisa a fosforilação do difosfato de adenosina (ADP) pelo fosfato de creatina, obtendo-se creatina e trifosfato de adenosina (ATP). A concentração catalítica foi determinada empregando-se as reações acopladas da hexocinase (HK) e glicose-6-fosfato desidrogenase (G6P-DH), a partir da velocidade de formação do

NADPH, medido a 340 nm, utilizando-se uma multileitora *Infinite M200 TECAN*.

4.8.5 Hemograma

Após a coleta, o sangue, destinado à dosagem do hemograma, foi processado na Divisão de Análises Clínicas do HU. Para a obtenção do hemograma foi utilizado o analisador hematológico automatizado Sysmex XE-2100D (Sysmex Corporation, Inc. Kobe, Japan).

4.8.6 Indicadores do estado nutricional

Para a avaliação do estado nutricional foi utilizado o Índice de Massa Corporal (IMC) que representa a razão entre peso e altura ao quadrado (WHO, 1995). O resultado foi apresentado em kg/m² e classificado a partir dos pontos de corte estabelecidos para cada faixa etária (ONIS et al., 2007; BRASIL, 2007; WHO, 2008). As adequações da CMB e DCT foram obtidas pelo valor das medidas (obtidas em centímetros e milímetros respectivamente) multiplicado por cem e dividido pelos valores esperados para o percentil 50°, segundo sexo e idade dos indivíduos, apresentados por Frisancho (1981; 1990) em seguida foi classificado o estado nutricional. Os pontos de cortes utilizados foram os estabelecidos pelo Centro Nacional de Estatísticas de Saúde (do inglês *National Center of Health Statistics* - NCHS), uma vez que o mesmo é o padrão de referência recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS): a) eutrofia, ≥ 90 a $< 110\%$; b) desnutrição leve, ≥ 80 a $< 90\%$; c) desnutrição moderada, ≥ 70 a $< 80\%$; d) desnutrição grave, $< 70\%$.

A variação do peso relacionada ao período prévio ao estudo foi avaliada a partir do cálculo de percentual de perda de peso, que resulta da divisão entre ΔP (diferença entre o peso usual e o peso atual) e o peso multiplicado por 100, para ser expresso em percentual. Sua classificação foi confrontada com o tempo de ocorrência, segundo valores propostos por Blackburn et al., (1977). Para tal, os indivíduos foram questionados quanto a ocorrência de variações no peso corporal, e em caso positivo, foram questionados quanto ao período de tempo de ocorrência.

4.8.6.1 Avaliação do risco nutricional por meio do Índice de Risco Nutricional (do inglês: *Nutrition Risk Index* - NRI)

O NRI foi calculado com base na equação: $1,519 (\text{albumina do soro; g/dL}) + 41,7 (\text{peso atual / peso usual})$. Foram adotados os pontos de corte definidos por Width; Reinhard, 2009, onde, $\text{NRI} > 100$ indica que o paciente não está desnutrido, $97,5\text{-}100$ indica desnutrição leve, $83,5\text{-}97,5$ indica desnutrição moderada e $\text{NRI} < 83,5$ indica desnutrição severa.

4.8.6.2 Avaliação do Índice de Prognóstico Inflamatório e Nutricional – IPIN simplificado

A relação proteína C-reativa/albumina representa um indicador simplificado do Índice de Prognóstico Inflamatório e Nutricional – IPIN, originalmente criado por Ingenbleek e Carpentier (1985) sendo calculado a partir da relação dos valores séricos de proteína C-reativa (PCR) e albumina. Os valores classificatórios dos graus de risco de complicações adotados foram: sem risco: $< 0,4$; baixo risco: $0,4\text{-}1,2$; médio risco: $1,2\text{-}2,0$; alto risco: $> 2,0$ (CORRÊA et al., 2002).

4.9 TRATAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Os dados foram organizados e registrados em banco de dados no programa Microsoft Office Excel 2007[®]. A análise estatística foi realizada no programa estatístico Software Graphpad Prism versão 5.0 para Windows (Graphpad, CA, USA). As variáveis quantitativas como dados antropométricos e bioquímicos, foram tratadas como mediana e intervalo interquartil devido distribuição assimétrica. As variáveis categóricas, referentes às características dos participantes do estudo foram descritas considerando as frequências absolutas e relativas de cada categoria das variáveis correspondentes. Para comparar os efeitos da intervenção sobre as variáveis quantitativas com distribuição assimétrica foram utilizados os testes de Mann-Whitney (análise intergrupos) e de Wilcoxon (análise intragrupos). Teste Qui² Exato de Fisher foi utilizado para testar diferenças de variáveis dicotômicas de caracterização. Para todas as variáveis contínuas foram testadas a simetria pelo teste de Shapiro Wilk, assumindo um $p < 0,05$ como assimetria. Para todos os testes, foi adotado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

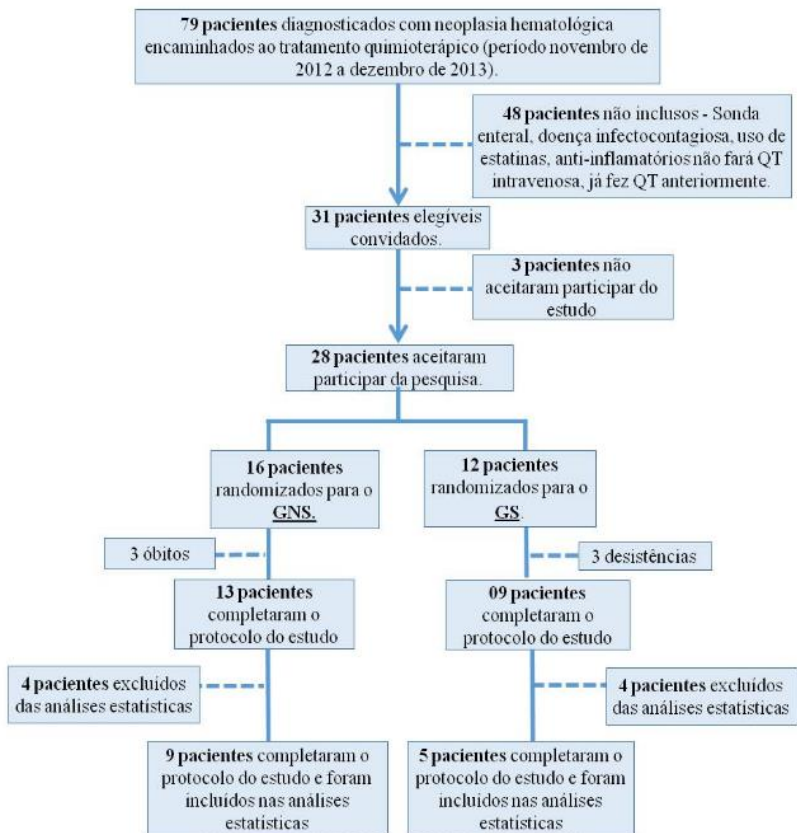
5 RESULTADOS

No período de novembro de 2012 a dezembro de 2013, 79 pacientes atendidos no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago/Universidade Federal de Santa Catarina (HU/UFSC) foram diagnosticados com neoplasia hematológica e encaminhados ao tratamento quimioterápico. Destes, 48 não foram considerados elegíveis de acordo com os critérios de inclusão. Dentre eles, quatro faziam uso de sonda enteral, 17 apresentavam alguma doença infectocontagiosa associada, um fazia uso de estatina, 25 pacientes faziam uso de anti-inflamatório e um havia feito tratamento quimioterápico anteriormente por outra neoplasia.

Sendo assim, 31 pacientes foram convidados a participar deste ensaio clínico randomizado. Destes, três pacientes optaram por não participar da pesquisa, sendo considerados perdas (dois homens com idade de 58 e 67 anos e uma mulher com idade de 25 anos, dois deles diagnosticados com LH e um com LNH). Ao final, 28 pacientes (90,3% dos pacientes elegíveis) foram randomizados em dois grupos de estudo: 16 para o GNS e 12 para o GS com óleo de peixe. Todavia, seis participantes foram removidos do estudo pelos motivos descritos na figura 8. Dentre os 22 restantes, oito pacientes foram excluídos das análises estatísticas, após os experimentos realizados, por erro metodológico durante análises bioquímicas.

Por fim, cinco pacientes do GS e nove pacientes do GNS completaram o protocolo do estudo e foram incluídos nas análises estatísticas. É importante destacar que em função da variedade de doenças, as classificações de estadiamento foram diversas, e apesar de terem sido inclusos indivíduos com diagnóstico recente, foram encontrados variados graus de progressão das doenças. Os diagnósticos e estadiamentos foram estabelecidos, principalmente, com base em biópsia, imunofenotipagem, citogenética e imuno-histoquímica, realizados pela divisão de patologia do Hospital Universitário.

Figura 8 - Fluxograma do recrutamento dos indivíduos participantes do estudo.



Fonte: o autor

Características dos pacientes com neoplasias hematológicas participantes do estudo

As características dos pacientes no momento inicial do estudo estão descritas na tabela 2. Houve similaridade na mediana da idade entre os grupos assim como, entre a distribuição dos sexos dos pacientes, sendo 42,8% do sexo feminino e 57,1% do sexo masculino, no total. Entre as neoplasias hematológicas se sobressaíram as Leucemias Agudas e os Linfomas não-Hodgkin, com 42,9% e 35,7% do

total, respectivamente. Destaca-se que apenas um paciente apresentou comorbidade no GS. As características dos 14 pacientes sem tratamento no momento inicial mostram que os grupos de estudo eram comparáveis. Nenhuma significância estatística foi observada entre os grupos para as variáveis de caracterização.

Noventa por cento dos pacientes diagnosticados com leucemias e linfomas fizeram uso dos fármacos: Metotrexato, Citarabina, Asparaginase, Daunorrubicina, Ciclofosfamida, Vincristina, Idarrubicina e Etoposídeo. A dose, o tempo de administração e a combinação dos medicamentos utilizados foram variáveis de acordo com o prognóstico da doença e de como o paciente reagiu ao tratamento. Estes foram dados registrados nos prontuários.

Tabela 2. Caracterização dos indivíduos participantes do estudo

Características	Grupos		p
	GNS (n=9)	GS (n=5)	
Sexo (n/ %)			0,58 [#]
Feminino	3 (33,3)	3 (60,0)	
Masculino	6 (66,6)	2 (14,3)	
Idade (anos)	55 [47,5; 65,5]	56 [23,0; 75,5]	0,95 ⁺
Diagnóstico (n/ %)			NA
Leucemia Aguda	4 (44,4)	2 (40,0)	
Leucemia Crônica	1 (11,1)	-	
Linfoma Hodgkin	-	2 (40,0)	
Linfoma não-Hodgkin	4 (44,4)	1 (20,0)	
Comorbidades (n/ %)			0,58 [#]
Ausente	5 (55,5)	4 (44,4)	
Presente	4 (44,4)	1 (20,0)	

Valores expressos em Mediana [intervalo interquartil] ou n e %; [#] Teste qui² exato de Fisher; ⁺ Teste de Mann Whitney; GNS: Grupo não suplementado; GS: Grupo suplementado; NA: Não se aplica.

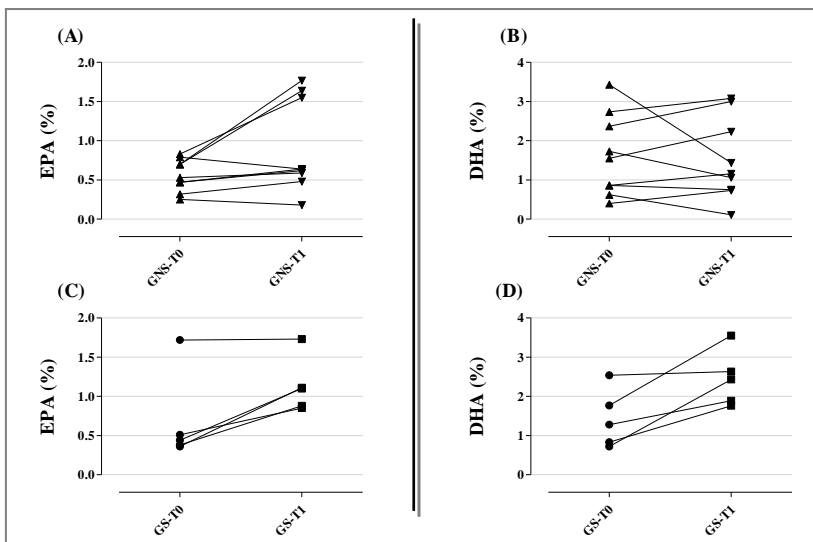
Perfil dos ácidos graxos plasmáticos

Foram avaliados 11 ácidos graxos plasmáticos por HPLC (Tabela 2), dentre esses, não houve separação do ácido graxo Araquidônico e Palmitoléico devido às condições da coluna e temperatura, portanto foram expressos em conjunto. Dentre os ácidos graxos que apareceram em maior proporção no período basal e final de ambos os grupos destacaram-se os ácidos graxos Linoleico e Palmítico. Após o período de nove semanas, houve decréscimo na proporção do ácido Esteárico no

GNS com significância estatística ($p < 0,05$) e tendência ao decréscimo no GS ($p = 0,06$). Também puderam ser observadas tendências ao incremento no GS de ácido Láurico ($p = 0,06$) e de ácido Mirístico ($p = 0,06$).

Pode-se observar ao final do estudo, que dos indivíduos do GNS, 77,8% apresentaram proporções aumentadas do ácido graxo Eicosapentaenoico (EPA) (figura 9 – A) e 55,6% apresentaram proporções aumentadas do ácido graxo Docosahexaenóico (DHA) (Figura 9 – B). Enquanto que no GS, 100% dos indivíduos apresentaram proporções aumentadas de EPA (figura 9 – C) e de DHA (figura 9 – D). Houve tendência ao incremento de EPA tanto no GS ($p = 0,06$) quanto no GNS ($p = 0,05$). Com o DHA houve também tendência ($p = 0,06$) ao incremento no GS, porém esta não ocorreu no GNS.

Figura 9. Percentual do ácido graxo Eicosapentaenoico presente no plasma dos indivíduos do GNS (A) e GS (C) e do ácido graxo Docosahexaenóico presente no plasma dos indivíduos do GNS (B) e GS (D).



Dados apresentados em Mediana [intervalo interquartil]. Wilcoxon para análise entre momento T0 e T1 intragrupo. GNS: Grupo não suplementado, $n = 9$; GS: Grupo suplementado com 2 g/dia de óleo de peixe, $n = 5$. T0: dados antes da primeira sessão de quimioterapia; T1: dados após 9 semanas de quimioterapia.

Tabela 3. Percentual (%) de ácidos graxos plasmáticos dos indivíduos participantes do estudo.

Ácidos Graxos	GNS -T0 (n=9)	GNS - T1 (n=9)	p ⁺⁺	GS - T0 (n=5)	GS - T1 (n=5)	p ⁺⁺
12:0	0,5 [0,3; 0,7]	0,5 [0,4; 0,9]	0,31	0,5 [0,4; 0,7]	0,9 [0,6; 1,5]	0,06
14:0	0,3 [0,2; 0,4]	0,6 [0,4; 0,8]	0,15	0,3 [0,1; 0,4]	0,8 [0,4; 1,7]	0,06
16:0	22,7 [21,9; 24,1]	24,6 [23,4; 27,7]	0,20	22,2 [18,3; 23,4]	21,8 [20,8; 25,6]	0,31
18:0	19,4 [18,0; 29,3]	16,1 [13,7; 17,5]	0,02*	18,0 [14,8; 20,0]	12,9 [10,7; 14,7]	0,06
18:1n-9	12,7 [11,4; 17,7]	14,4 [12,4; 17,0]	0,65	17,2 [14,9; 20,6]	15,5 [13,5; 16,6]	0,19
16:1n-7 + 20:4n-6	6,6 [5,9; 10,4]	9,9 [6,8;10,6]	0,13	8,9 [8,6;11,82]	11,1[7,9; 11,3]	1
18:2n-6	28,4 [26,1; 32,6]	31,8 [25,4; 36,6]	0,50	30,6 [30,0; 31,2]	33,7 [29,0; 37,6]	0,44
18:3n-3	0,2 [0,2; 0,3]	0,2 [0,2; 0,4]	0,21	0,3 [0,1; 0,3]	0,3 [0,2; 0,3]	0,34
20:5n-3	0,5 [0,4; 0,7]	0,6 [0,5; 1,6]	0,05	0,4 [0,4; 1,1]	1,1 [0,9; 1,4]	0,06
22:6n-3	1,5 [0,7; 2,5]	1,2 [0,7; 2,6]	0,70	1,3 [0,8; 2,1]	2,4 [1,8; 3,1]	0,06

Valores expressos em Mediana [intervalo interquartil].

⁺⁺ Wilcoxon.

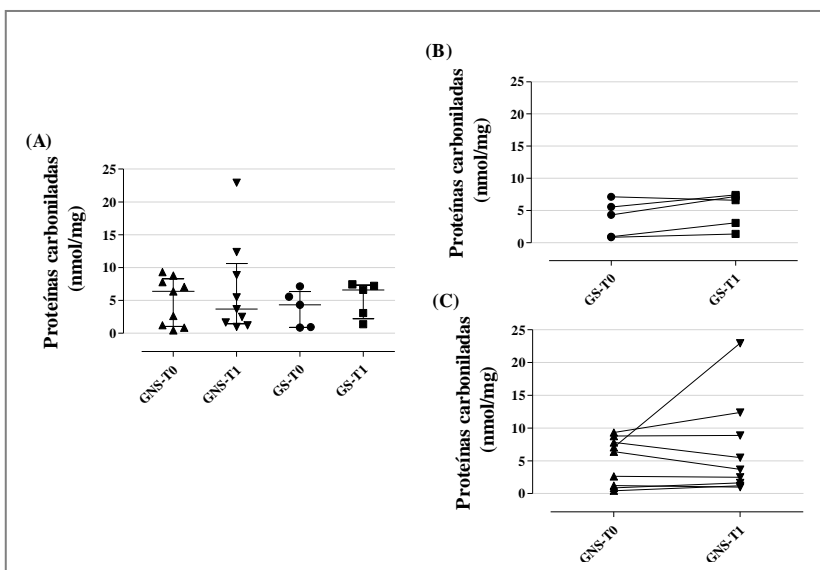
Comparação entre os momentos T0 e T1 dentro do mesmo grupo.

Abreviações: GNS: grupo não suplementado, GS: grupo suplementado, T0: dados antes da primeira sessão de quimioterapia; T1: dados após 9 semanas de quimioterapia. Ácido láurico (12:0); Ácido mirístico (14:0); Ácido palmítico (16:0); Ácido esteárico (18:0); oléico (18:1n-9); Ácido palmitoleico (16:1n-7); Ácido araquidônico (20:4n-6); Ácido linoleico (18:2n-6); Ácido alfa-linolênico (18:3n-3); Ácido eicosapentaenoico (20:5 n-3); Ácido (22:6n-3).

Carbonilação proteica

Após o período de nove semanas com ou sem suplementação, não foram observadas diferenças significativas tanto intra, quanto intergrupos na concentração de proteínas carboniladas no plasma (figura 10 – A). Entretanto, é possível observar que após as 9 semanas, 80% dos indivíduos do GS (figura 10 – B) tiveram um aumento neste parâmetro, enquanto que no GNS (figura 10 – C) apenas 55,5% (Qui² Exato de Fisher, $P = 0,58$). Na análise por grupos, no momento inicial e final o GS apresentou mediana de 4,3 [0,9; 6,3] e 6,6 [2,2; 7,3] nmol/mg de proteínas carboniladas, respectivamente. O GNS apresentou mediana de 6,4 [1,0; 8,3], no momento inicial, e 3,7 [1,4; 10,6] nmol/mg de proteínas carboniladas no momento final.

Figura 10 – Quantificação da concentração de proteínas carboniladas (nmol/mg) presentes no plasma dos indivíduos participantes (A), dos indivíduos do GS (B) e do GNS (C).

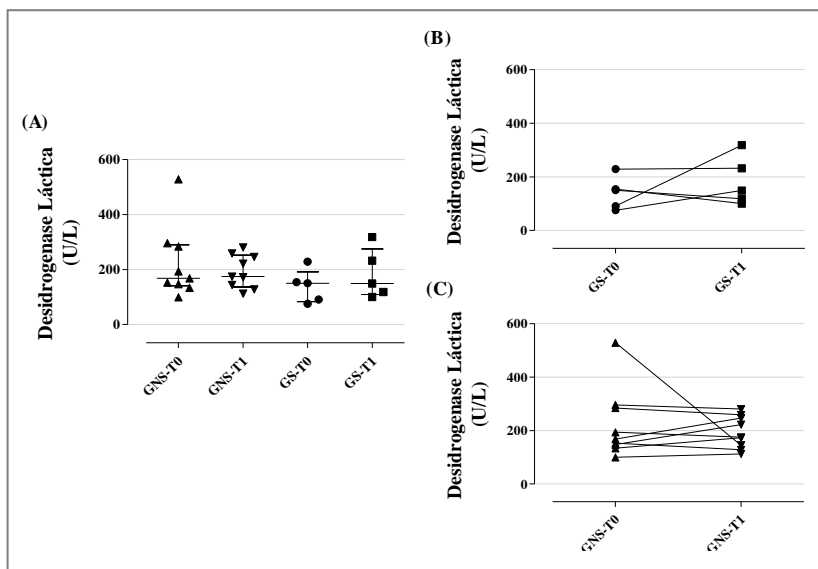


Dados apresentados em mediana [intervalo interquartil]. Mann-Whitney para análise intergrupos e de Wilcoxon para análise intragrupo, $p < 0,05$. GNS: Grupo não suplementado, $n = 9$; GS: Grupo suplementado com 2 g/dia de óleo de peixe, $n = 5$. T0: dados antes da primeira sessão de quimioterapia; T1: dados após 9 semanas de quimioterapia.

Marcadores de lesão celular plasmáticos

A atividade enzimática da desidrogenase láctica não apresentou diferenças estatísticas quando comparados os momentos iniciais e finais, intra e intergrupos (figura 11 – A). O GS apresentou mediana de 150,4 [83,0; 191,2] no momento inicial e de 149,4 [109,2; 275,0] U/L no momento final. O GNS apresentou mediana de 168,2 [140,8; 289,9] e 174,4 [136,4; 252,3] U/L no momento inicial e final, respectivamente. Após as 9 semanas de acompanhamento, 60% dos indivíduos do GS (figura 11 – B) apresentaram aumento da atividade da LDH no plasma, enquanto que no GNS (figura 11 – C) apenas 44,4% apresentaram aumento (Qui² Exato de Fisher, P= 1,00).

Figura 11 – Atividade enzimática da Desidrogenase láctica (U/L) no plasma dos indivíduos participantes (A), dos indivíduos do GS (B) e do GNS (C).

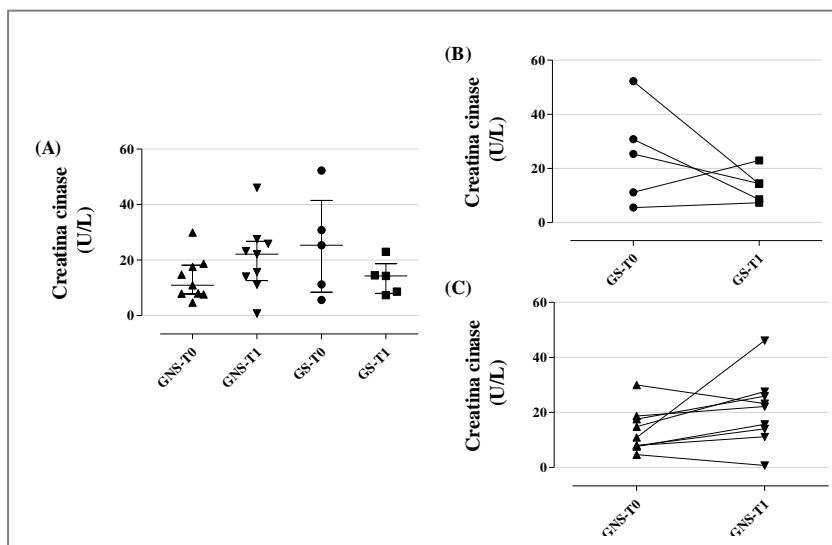


Dados apresentados em mediana [intervalo interquartil]. Mann-Whitney para análise intergrupos e de Wilcoxon para análise intragrupo, $p < 0,05$. GNS: Grupo não suplementado, $n = 9$; GS: Grupo suplementado com 2 g/dia de óleo de peixe, $n = 5$. T0: dados antes da primeira sessão de quimioterapia; T1: dados após 9 semanas de quimioterapia.

A atividade enzimática da creatina cinase, não apresentou diferenças significativas quando comparados os momentos iniciais e

finais, intra e intergrupos (figura 12 – A). No momento inicial e final, o GS apresentou mediana de 25,4 [8,4; 41,5] e 14,3 [8,0; 18,7] U/L respectivamente. O GNS apresentou mediana de 10,9 [7,8; 18,2] no momento inicial e 22,1 [12,6; 26,8] U/L no momento final. Após 9 semanas, 40% dos indivíduos do GS (figura 12- B) apresentaram aumento da atividade enzimática da creatina cinase, enquanto que no GNS (figura 12 – C), 78% apresentaram aumento da atividade da enzima (Qui² Exato de Fisher, P= 0,26).

Figura 12 – Atividade enzimática da Creatina cinase (U/L) no plasma dos indivíduos participantes (A), dos indivíduos do GS (B) e do GNS (C).



Dados apresentados em mediana [intervalo interquartil]. Mann-Whitney para análise intergrupos e de Wilcoxon para análise intragrupo, $p < 0,05$. GNS: Grupo não suplementado, $n = 9$; GS: Grupo suplementado com 2 g/dia de óleo de peixe, $n = 5$. T0: dados antes da primeira sessão de quimioterapia; T1: dados após 9 semanas de quimioterapia.

Parâmetros hematológicos e estado nutricional dos pacientes com neoplasias hematológicas participantes do estudo

Entre os parâmetros hematológicos avaliados (tabela 3), não foram observadas diferenças significativas para os indivíduos suplementados com óleo de peixe. Pode-se observar significância estatística no incremento da contagem do hematócrito, dos eritrócitos e

das plaquetas dos indivíduos do GNS, após as nove semanas de tratamento ($p<0,05$).

Os indicadores do estado nutricional, mostrados na tabela 4, não apresentaram significância estatística após o período de nove semanas com ou sem suplementação de óleo de peixe, tanto intra, quanto intergrupos. No momento inicial do estudo, o GNS apresentou mediana de IMC $25,6 \text{ kg/m}^2$, com 66,7% dos indivíduos classificados com excesso de peso e 33,3% eutróficos. O GS apresentou mediana de IMC $25,0 \text{ kg/m}^2$, com 60% dos indivíduos classificados com excesso de peso e 40% eutróficos. Após as 9 semanas o GNS manteve o mesmo percentual de indivíduos em cada classificação, enquanto que no GS as proporções modificaram-se para 20% dos indivíduos com classificação de excesso de peso e 80% eutróficos. Também no GS, observamos uma tendência para o aumento da adequação da CMB no momento final ($p=0,06$).

As concentrações séricas de proteína C-reativa estavam acima dos valores de referência para ambos os grupos no momento inicial, ficando com a mediana normalizada após o período de nove semanas. No momento inicial 77,8% dos indivíduos do GNS estavam acima dos valores de referência e no momento final, 33,3% dos indivíduos. No GS 80% dos indivíduos estavam acima dos valores de referência no momento inicial e no momento final, apenas 20% dos indivíduos.

O GNS estava na categoria de alto risco de complicações no momento inicial e passou para categoria médio risco, após as nove semanas (GNS-T0: 3,9 [1,2 ; 27,8]; GNS-T1: 1,3 [0,9 ; 18,5]) com base na relação PCR/albumina. Enquanto que no GS, a mudança de categoria observada foi de alto risco no momento inicial, para baixo risco após suplementação com óleo de peixe (GS-T0: 12,6 [2,2 ; 24,0]; GS-T1: 0,9 [0,8; 12,3]). Segundo as medianas do NRI, apesar de um pequeno aumento em ambos os grupos, após as nove semanas, tanto o GNS quanto o GS, se mantiveram na categoria de desnutrição moderada, com mediana 90,3 [85,1 ; 92,4] e 92,4 [85,7 ; 101,6] respectivamente.

Tabela 4. Parâmetros hematológicos dos indivíduos participantes do estudo.

	Grupos		Valores de referência	p
	GNS (n=9)	GS (n=5)		
Hematócrito (%)			M: 40,0- 52,0/F: 37,0-47,0	
T0	25,4 [22,8; 29,9]	35,4 [24,8; 41,1]		0,15 ⁺
T1	30,5 [27,1; 35,4]	37,9 [30,1; 38,9]		0,24 ⁺
p	0,01 ^{++ *}	0,62 ⁺⁺		
Hemoglobina (g/dl)			M: 13,0- 18,0/F: 12,0-16,0	
T0	8,9 [7,5; 11,6]	13,4 [6,7; 15,2]		0,44 ⁺
T1	11,5 [8,9; 12,1]	12,5 [10,4; 16,3]		0,20 ⁺
p	0,13 ⁺⁺	0,31 ⁺⁺		
Eritrócitos (10⁶/mm³)			M: 4,3 -5,5 / F: 3,9 -5,0	
T0	2,8 [2,2; 3,7]	4,1 [2,1; 4,9]		0,52 ⁺
T1	4,2 [2,7; 4,5]	3,7 [3,3; 4,3]		0,84 ⁺
p	0,00 ^{++ *}	0,81 ⁺⁺		
Leucócitos (10⁶/mm³)			3,8 ; 11,0	
T0	4,1 [2,8; 8,4]	5,3 [4,7; 16,3]		0,23 ⁺
T1	4,7 [3,3; 7,0]	6,9 [2,8; 13,5]		0,61 ⁺
p	0,91 ⁺⁺	1,00 ⁺⁺		
Plaqueta(unidades/mm³)			150000 - 440000	
T0	110000 [18000; 164000]	22100 [62000; 276000]		0,19 ⁺
T1	266000[172500;333500]	168000[72000;327500]		0,52 ⁺
p	0,00 ^{++ *}	1,00 ⁺⁺		

Valores expressos em Mediana [intervalo interquartil] ⁺Teste de Mann Whitney – comparação entre GNS e GS nos respectivos momentos; ⁺⁺ Teste de Wilcoxon – comparação entre T0 e T1 intragrupo. GNS: Grupo não suplementado; GS: Grupo suplementado; T0: dados antes da primeira sessão de quimioterapia; T1: dados após 9 semanas de quimioterapia;

Tabela 5. Indicadores do estado nutricional dos indivíduos participantes do estudo.

	Grupos		Valores de referência	p
	GNS (n= 9)	GS (n= 5)		
IMC (kg/m²)			18,5-24,9	
T0	25,6 [22,8; 29,8]	25,0 [19,9; 29,2]		0,61 ⁺
T1	25,8 [20,4; 28,9]	24,2 [20,6; 27,1]		0,69 ⁺
p	0,07 ⁺⁺	0,44 ⁺⁺		
DCT (mm)				
T0	25,0 [19,5; 34,0]	22,0 [18,3; 26,0]		0,60 ⁺
T1	23,0 [16,0; 32,5]	21,0 [15,5; 25,0]		
p	0,15 ⁺⁺	0,81 ⁺⁺		0,70 ⁺
CMB (cm)				
T0	21,9[20,8; 24,2]	22,6 [19,5; 23,8]		0,69 ⁺
T1	22,2 [21,4; 22,9]	23,2 [20,8; 25,0]		0,29 ⁺
p	0,82 ⁺⁺	0,06 ⁺⁺		
Adequação DCT (%)			-*	
T0	166,7[107,0;209,8]	121,0[92,8;184,5]		0,44 ⁺
T1	136,0 [96,0; 222,8]	100,0[52,4;111,2]		0,12 ⁺
p	0,09 ⁺⁺	0,19 ⁺⁺		
Adequação CMB (%)			-*	
T0	89,6 [76,4; 96,9]	90,1[80,0; 104,4]		0,69 ⁺
T1	84,0 [78,2; 98,7]	93,0 [86,5; 107,6]		0,24 ⁺
p	0,91 ⁺⁺	0,06 ⁺⁺		

Continuação Tabela 4. Indicadores do estado nutricional dos indivíduos participantes do estudo.

PCR (mg/ l)	<5,0		
T0	14,9 [4,1; 74,8]	35,3 [7,8; 64,1]	0,79 ⁺
T1	4,4 [3,2; 45,2]	3,2 [3,1; 18,3]	0,28 ⁺
p	0,12 ⁺⁺	0,13 ⁺⁺	
Albumina (g/dl)	3,4 a 5,0		
T0	3,1 [2,8; 3,8]	3,6 [2,8; 3,7]	0,69 ⁺
T1	3,3 [3,0; 3,6]	3,8 [3,1; 4,1]	0,28 ⁺
p	0,25 ⁺⁺	0,31 ⁺⁺	
IPIN (PCR / Albumina)	_**		
T0	3,9 [1,2 ; 27,8]	12,6 [2,2 ; 24,0]	0,95 ⁺
T1	1,3 [0,9 ; 18,5]	0,9 [0,8 ; 12,3]	0,19 ⁺
p	0,13 ⁺⁺	0,12 ⁺⁺	
NRI	_***		
T0	88,8 [85,5 ; 95,7]	91,3 [82,8 ; 96,9]	0,52 ⁺
T1	90,3 [85,1 ; 92,4]	92,4 [85,7; 101,6]	0,24 ⁺
p	1,00 ⁺⁺	0,44 ⁺⁺	
% perda de peso nos últimos 6 meses	5,0 [1,0; 19]	5,0 [2,0; 12]	1,00 ⁺

Valores expressos em Mediana [intervalo interquartil] ⁺Teste de Mann Whitney - comparação entre GNS e GS nos respectivos momentos de estudo; ⁺⁺ Teste de Wilcoxon - Comparação entre T0 e T1 intragrupo. GNS: Grupo não suplementado; GS: Grupo suplementado; T0: dados antes da primeira sessão de quimioterapia; T1: dados após 9 semanas de quimioterapia; IMC: Índice de massa corporal; PCR: Proteína C-Reativa; CMB: circunferência muscular do braço; NRI: Índice de risco nutricional; -* obesidade >120%; sobrepeso ≥110 a <120%; eutrofia ≥90 a <110%; desnutrição leve ≥80 a <90%; desnutrição moderada ≥ 70 a <80% desnutrição grave <70%. -** sem risco <0,4; baixo risco 0,4-1,2; médio risco 1,2 -2,0; alto risco >2,0. -*** não-desnutrido > 100; desnutrição leve 97,5 a 100; desnutrição moderada 83,5 a 97,4; desnutrição grave, < 83,5.

Os quadros a seguir representam o percentual de aumento ou redução de cada indivíduo do GS ou GNS por parâmetro após nove semanas.

O Quadro 2 é referente ao GS, o qual possui cinco indivíduos (três mulheres, dois homens) sendo destes, dois diagnosticados com Leucemia aguda, dois com Linfoma de Hodgkin e um com Linfoma não-Hodgkin. Um indivíduo estava com estadiamento de alto risco e o restante com estadiamento de risco intermediário. Dentre os planos quimioterápicos utilizados, havia três diferentes. O quadro representa o percentual de aumento ou redução que cada indivíduo teve, após 9 semanas de tratamento quimioterápico mais suplementação de 2 g/dia de óleo de peixe, para os parâmetros: proporção de ácido graxo EPA; proporção de ácido graxo DHA; concentração de proteínas carboniladas; atividade enzimática da Creatina cinase; atividade enzimática da desidrogenase láctica; IMC; adequação da CMB; adequação da DCT; IPIN (proteína C-reativa/albumina – versão simplificada) e NRI. Não houve um padrão de resposta referente ao tipo de neoplasia ou plano quimioterápico.

O Quadro 3 é referente ao GNS, o qual possui nove indivíduos (duas mulheres, sete homens) sendo destes, cinco diagnosticados com Leucemia aguda, um com Leucemia crônica, três com Linfoma não-Hodgkin. Cinco indivíduos estavam com estadiamento de risco intermediário e o restante com estadiamento de alto risco. Dentre os planos quimioterápicos utilizados, havia três diferentes. O quadro representa o percentual de aumento ou redução que cada indivíduo teve, após as 9 semanas de tratamento quimioterápico, para os parâmetros: proporção de ácido graxo EPA; proporção de ácido graxo DHA; concentração de proteínas carboniladas; atividade enzimática da Creatina cinase; atividade enzimática da desidrogenase láctica; IMC; adequação da CMB; adequação da DCT; IPIN (proteína C-reativa/albumina – versão simplificada) e NRI. Não houve um padrão de resposta referente ao tipo de neoplasia ou plano quimioterápico.

Quadro 2. Percentual de aumento ou redução de cada indivíduo do GS por parâmetro após 9 semanas de tratamento quimioterápico com suplementação de 2 g/dia de óleo de peixe.

GS	Percentual (%) de aumento ou redução												
Neoplasias hematológicas	Parâmetros												
	S	Est.	PQ	EPA	DHA	PTN C	CK	LDH	IMC	Adeq CMB	Adeq DCT	IPIN	NRI
Leucemias													
Leucemia aguda	M	B	5	150↑	48↑	2↑	79↓	225↑	12↓	7↑	44↓	93↑	3↑
Leucemia aguda	F	A	7	67↑	3↑	35↓	30↑	63↑	3↓	3↑	14↓	16↓	4↑
Linfomas													
Linfoma de Hodgkin	M	A	3	208↑	112↑	99↑	103↑	8↓	9↑	12↑	31↑	97↓	17↑
Linfoma de Hodgkin	F	A	3	1↑	100↑	21↑	72↓	67↑	2↓	1↑	12↓	74↓	2↓
Linfoma não-Hodgkin	F	A	2	131↑	237↑	250↑	73↓	34↑	3↓	3↑	14↑	4↑	3↓

GS: Grupo suplementado; ↑ aumentou; ↓ reduziu; S: sexo (M: masculino / F: feminino); Est.: estadiamento (A: risco intermediário / B: alto risco); PQ: protocolo quimioterápico (2: ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona / 3: doxorubicina, bleomicina, vimblastina, dacarbazina/5:daunorrubicina,zofram,doxorubicina, bleomicina, vimblastina, dacarbazina, citarabina / 7: daunorrubicina, zofram); EPA: ácido eicosapentaenoico; DHA: ácido ; PTN C: proteínas carboniladas; CK: creatina cinase; LDH: lactato desidrogenase; IMC: índice de massa corpórea; Adeq CMB: adequação da circunferência muscular do braço; Adeq DCT: adequação da dobra cutânea tricipital; IPIN: índice de prognóstico inflamatório nutricional (Proteína C-reativa/albumina - versão simplificada); NRI: índice de risco nutricional.

Quadro 3. Percentual de aumento ou redução de cada indivíduo do GNS por parâmetro após 9 semanas de tratamento quimioterápico.

GNS	Percentual (%) de aumento ou redução												
Neoplasias hematológicas	Parâmetros												
	S	Est.	PQ	EPA	DHA	PTN C	CK	LDH	IMC	Adeq CMB	Adeq DCT	IPIN	NRI
Leucemias													
Leucemia aguda	M	A	5	153↑	58↓	21↓	84↓	127↑	22↓	8↑	1↓	28↓	5↓
Leucemia aguda	M	A	5	134↑	43↑	5↓	86↑	46↑	7↑	14↑	20↓	26↓	10↓
Leucemia aguda	M	B	5	36↑	39↓	29↓	23↓	72↓	13↓	4↑	31↓	62↓	3↓
Leucemia aguda	F	B	5	50↑	35↑	33↑	47↑	50↑	2↓	2↑	10↓	73↓	3↑
Leucemia aguda	M	A	2	19↓	26↑	42↓	322↑	16↓	2↓	3↓	5↓	3↓	3↑
Leucemia crônica	F	B	5	28↓	82↓	169↑	37↑	5↓	0	8↓	2↑	80↓	2↑
Linfomas													
Linfoma não Hodgkin	M	B	2	11↑	82↑	92↑	106↑	9↓	5↓	14↓	55↑	97↓	9↑
Linfoma não-Hodgkin	M	A	1	32↑	13↓	1↑	77↑	10↓	2↓	2↓	13↓	112↑	4↓

6 DISCUSSÃO

Os AGPI n-3 (EPA e DHA), presentes no óleo de peixe, têm sido estudados extensivamente devido a potenciais efeitos moduladores sobre o estado nutricional (melhora ou manutenção) em situações oncológicas (FEARON et al., 2006; VAN DER MEIJ et al., 2012). Adicionalmente, alguns dados sugerem potencial maior eficácia do tratamento quimioterápico em pacientes com câncer suplementados com óleo de peixe (MURPHY, et al., 2011; VAUGHAN; HASSING; LEWANDOWSKI, 2013). No presente estudo, os dados da cromatografia líquida de alta eficiência demonstraram que 2 g/dia de óleo de peixe, contendo 367 mg de EPA e 243 mg de DHA ingeridos durante nove semanas, foi suficiente para alterar a composição absoluta de ácidos graxos dos constituintes lipídicos plasmáticos. Apesar da não significância estatística, observou-se aumento de 2,5 vezes nas proporções de EPA e 1,9 vezes nas proporções de DHA no GS. Outro ponto a destacar foi que 100% dos indivíduos apresentaram proporções aumentadas destes AGPI. Estes resultados são semelhantes aos que foram apresentados em outros estudos realizados com semelhantes doses e tempo de suplementação de óleo de peixe em variados tipos de cânceres (BONATTO et al., 2012; FAHRMANN et al., 2012; MOCELLIN et al., 2013). Os indivíduos do GNS também apresentaram um pequeno incremento de EPA entre o tempo de acompanhamento, fato este também observado por Cvetković et al.(2013).

Nos últimos anos, potenciais efeitos dos AGPI n-3 têm sido demonstrados nas neoplasias hematológicas (FAHRAMAN et al., 2013; HAJJAJI et al., 2013). Porém, até o momento os estudos *in vivo* são escassos e com desenhos metodológicos diferentes, dificultando a comparação entre eles. A amostra do presente estudo é heterogênea e possui número amostral relativamente pequeno em consequência da situações ligadas ao recrutamento (e.g. indivíduos com diferentes diagnósticos onco-hematológicas e planos quimioterápicos). Apesar de este ponto ser potencial limitação, não houve um padrão de resposta variação dos parâmetros referente ao tipo de neoplasia ou plano quimioterápico.

Com base na literatura, até então este foi o primeiro estudo a associar suplementação de óleo de peixe com carbonilação proteica e atividade das enzimas CK e LDH de indivíduos com neoplasias hematológicas durante quimioterapia. Alguns estudos sugerem que a suplementação de AGPI n-3 pode aumentar a citotoxicidade dos fármacos nas células neoplásicas incrementando os marcadores de

estresse oxidativo devido à incorporação de AGPI na membrana celular (BAUMGARTNER et al., 2004; BIONDO et al., 2008; STURLAN et al., 2003; VAUGHAN; HASSING; LEWANDOWSKI, 2013). No presente estudo, a determinação da concentração de proteínas carboniladas revelou que 80% dos indivíduos do GS apresentaram proporções aumentadas de proteínas carboniladas após nove semanas de suplementação com óleo de peixe. Considerando que estresse oxidativo é fundamental na apoptose, estudos *in vitro* mostraram que ao adicionar AGPI n-3 em cultura, sozinhos ou combinados, induziram a apoptose em células de linhagem leucêmicas (ALTENBURG, et al., 2011; CHIU, WONG e OOI, 2004; GILLIS et al., 2002; SIDIQQUI et al., 2001). Outros autores mostraram que em ratos tratados com óleo de peixe, foi possível observar o incremento de marcadores de estresse oxidativo (KIKUWAGA et al., 2003; MORENO et al., 2003). No GNS do presente estudo, 55,5% dos indivíduos apresentaram proporções aumentadas de proteínas carboniladas no plasma após o tratamento quimioterápico. O aumento das proporções de proteínas carboniladas também foi observado em estudos realizados em indivíduos com LLA, LH e LMC, além de outros tipos de cânceres, em tratamento quimioterápico ou não (BATTISTI et al, 2008; MORABITO et al., 2004;. AHMAD et al., 2008; PIGNATELLI et al., 2001; YLMAZ et al., 2003).

Em decorrência do estresse oxidativo, sabe-se que poderá ocorrer lesão celular com consequente aumento da atividade extracelular das enzimas CK e LDH (BELL; KHAN, 1999; JOVANOVIĆ et al., 2010; VENKATARAMAN et al., 2009). Assim como no marcador de estresse oxidativo, no presente estudo não foram observadas diferenças estatísticas nestes marcadores de lesão celular. O que pôde ser observado, apesar de não significativo, foi a atividade da CK aumentada após as nove semanas de tratamento quimioterápico, em 77% dos pacientes do GNS. Este resultado concorda com alguns estudos realizados em indivíduos com LLA e LMC e que tiveram os valores médios de CK significativamente aumentados após o tratamento quimioterápico (EL-DAKRROORY et al., 2014; FRANCESCHINO et al., 2008). Ácidos graxos poli-insaturados n-3 incorporados em membranas celulares as deixam mais susceptíveis ao dano oxidativo podendo culminar em lesão celular resultando no aumento das atividades da CK e LDH como visto em ratos suplementados com óleo de peixe (HONG et al., 2015; YLMAZ et al., 2004; SUGIHARA et al., 1994;). Li. e colaboradores (2005) ao incubarem com EPA, células PC12 do feocromocitoma de ratos, observaram aumento da atividade da

LDH proporcional ao aumento da dose. Os autores observaram que a atividade da LDH aumentou significativamente no tratamento com 100 e 200 mM de EPA em 144,4 e 197,3% respectivamente, em relação ao controle não tratado. Entretanto, no presente estudo, a suplementação com óleo de peixe não apresentou efeitos sobre os dois marcadores de lesão celular plasmáticos. Este fato pode ser devido ao binômio dose-tempo utilizado, assim como, devido ao tipo de morte induzida, pois na morte por necrose poderá ocorrer intensa liberação destas enzimas na corrente sanguínea, ao contrário da morte por apoptose, em virtude da integridade da membrana plasmática. Porém, quando as células permanecem em apoptose por um longo tempo, poderá ocorrer um processo de necrose secundária ao processo de apoptose, devido ao esgotamento das reservas energéticas que mantém o gradiente iônico entre os meios interno e externo da membrana plasmática (LOBNER, 2000).

Os indivíduos participantes do estudo apresentaram dados hematológicos variados e após as nove semanas, não foram observadas diferenças significativas nos dados hematológicos dos indivíduos suplementados com óleo de peixe. Puderam ser observados aumentos significativos na contagem dos hematócritos, eritrócitos e das plaquetas dos indivíduos do GNS, porém este resultado pode ter sido influenciado pelo fato dos dados hematológicos destes indivíduos estarem relativamente diminuídos em relação aos dos indivíduos do GS.

Tanto o GNS como o GS estavam classificados com excesso de peso segundo o IMC, no momento basal desse estudo. Este resultado corrobora o observado por outros autores que sugerem que os indivíduos com neoplasias hematológicas não apresentam baixo peso corporal no momento do diagnóstico (MEDEIROS et al., 2012; CARSON, et al., 2012; BRUNNER et al., 2013). O presente estudo mostrou resultado semelhante ao de Alibhai e colaboradores (2012) que avaliaram indivíduos adultos recentemente diagnosticados com LMA e que estavam classificados com excesso de peso, com IMC médio de 26,6 kg/m². Assim como observado no estudo de Medeiros e colaboradores (2012) que encontraram 63% dos indivíduos recentemente diagnosticados com LMA classificados com excesso de peso, com IMC médio de 26,7 kg/m². O excesso de peso no momento do diagnóstico também foi observado em indivíduos com LNH, com 39% dos indivíduos participantes classificados segundo o IMC com excesso de peso e 25% com obesidade (KENNETH et al., 2012).

Sabe-se que com a progressão da doença e com os efeitos colaterais do tratamento quimioterápico, os indivíduos poderão sofrer

deterioração do estado nutricional. Malihi e colaboradores (2013) mostraram em pacientes com leucemia aguda antes da quimioterapia, 80,95% estavam eutróficos e 19,05% estavam moderadamente desnutridos e que após a quimioterapia apenas 7,94% estavam eutróficos, 76,01% estavam moderadamente desnutridos e 15,87% estavam gravemente desnutridos. Porém, no presente estudo não houve mudanças significativas e após as nove semanas de tratamento quimioterápico o GNS manteve-se classificado com excesso de peso. Em contrapartida, embora sem significância estatística, o GS diminuiu a mediana do IMC, ficando classificado como eutrófico após as nove semanas de suplementação. Ao contrário de outros estudos que observaram a manutenção ou melhora do estado nutricional quando suplementado em média 2 g/dia de óleo de peixe durante 8 ou 9 semanas. Porém, foram estudos realizados em indivíduos com câncer de pulmão ou colo retal (BONATTO et al., 2012; FINOCHIARO et al., 2012; MOCELLIN et al., 2012; MURPHY et al., 2011; SILVA et al., 2012). Estes autores além de observarem a manutenção/aumento do IMC dos indivíduos suplementados, observaram a manutenção da massa livre de gordura. Corroborando este resultado, os indivíduos do GS, do presente estudo, mantiveram a classificação de eutrofia segundo adequação da CMB, após nove semanas de suplementação e ainda pôde ser observada tendência ao incremento sugerindo uma melhora/manutenção do estado nutricional ($p=0,06$). Enquanto que no GNS os indivíduos se mantiveram na classificação de desnutrição leve e apresentaram um pequeno decréscimo nos valores após as nove semanas de tratamento quimioterápico.

Os indivíduos do GNS estavam com a mediana dos valores séricos de albumina abaixo dos valores de referência em ambos os momentos do estudo, sugerindo desnutrição e inflamação, as quais suprimem a síntese de albumina (GUPTA; LIS, 2010). Enquanto que os indivíduos do GS estavam com a mediana dos valores séricos dentro dos valores de referência. Ao relacionar os valores de albumina, peso atual e usual - NRI, utilizado para avaliar impacto de intervenções nutricionais (KYLE et al., 2005), não foram observadas alterações em ambos os grupos que no momento basal e final estavam classificados como não-desnutridos.

As concentrações séricas de proteína C-reativa estavam acima do valor de referência para ambos os grupos no momento inicial, sugerindo inflamação e/ou infecção (DU CLOS, 200). Apesar da falta de significância estatística, após as nove semanas, as medianas apresentaram decréscimo em seus valores absolutos nos dois grupos,

sendo maior no GS. Outros pesquisadores ao suplementarem, indivíduos com câncer colo retal, com também 2 g/dia de óleo de peixe durante nove semanas, observaram o grupo suplementado com média de 3,4 mg/L em comparação a 13,0 mg/L no grupo controle (SILVA et al., 2012). Na relação PCR/Albumina, apesar de também não apresentar significância estatística, foi possível observar mudanças em ambos os grupos mostrando possível melhora no estado inflamatório/nutricional. O GNS passou da categoria alto risco para médio risco, enquanto o GS passou de alto risco para baixo risco após suplementação com óleo de peixe, sugerindo sensibilidade da relação PCR/albumina à suplementação. Mocellin e colaboradores mostraram em seu estudo que a proporção de PCR/albumina pôde ser reduzida com a suplementação de óleo de peixe. O estudo foi realizado com 11 adultos com câncer colo retal em quimioterapia, divididos em grupo suplementado e não suplementado. O grupo suplementado recebeu 2 g/dia de óleo de peixe encapsulado e foi avaliado no dia anterior à primeira sessão de quimioterapia e nove semanas mais tarde, mostrando valores significativamente reduzidos ($p < 0,05$) da relação PCR/albumina (MOCELLIN et al., 2013).

Os resultados aqui observados indicam a necessidade da realização de novos estudos que possam controlar os possíveis fatores de confusão encontrados por nós. Dessa maneira existirá a possibilidade de observar conclusões mais sólidas sobre os potenciais benefícios da suplementação com óleo de peixe para os indivíduos que possuem neoplasias hematológicas e estão em tratamento quimioterápico. Estes indivíduos requerem cuidados especiais e tratamento adjuvante diferenciado poderá proporcionar melhor prognóstico.

7 CONCLUSÃO

Considerando os resultados encontrados observou-se que o protocolo da suplementação utilizado foi suficiente para alterar a composição absoluta de ácidos graxos, destacando-se que 100% dos indivíduos suplementados apresentaram proporções aumentadas de EPA e DHA. Embora os AGPI n-3 (EPA e DHA), presentes no óleo de peixe, têm sido estudados extensivamente devido a potenciais efeitos moduladores sobre estado nutricional e melhor eficácia da quimioterapia. Este foi, com base na literatura, o primeiro estudo a associar a suplementação de óleo de peixe com carbonilação proteica e marcadores de lesão celular em indivíduos com neoplasias hematológicas durante quimioterapia. Porém não foi possível observar efeitos significativos da suplementação de 2 g/dia de óleo de peixe durante nove semanas sobre os parâmetros avaliados, tanto de estresse oxidativo como de estado nutricional. Estes resultados podem ter sido influenciados pelo binômio dose-tempo utilizado e indicam a necessidade da realização de novos estudos que possam controlar os possíveis fatores de confusão encontrados por nós. Dessa maneira existirá a possibilidade de observar conclusões mais sólidas sobre os potenciais benefícios da suplementação com óleo de peixe para os indivíduos que possuem neoplasias hematológicas e estão em tratamento quimioterápico. Estes indivíduos requerem cuidados especiais e tratamento adjuvante diferenciado poderá proporcionar melhor prognóstico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, B.M., MA, D. L.; Are all n-3 polyunsaturated fatty acids created equal? **Lipids in Health and Disease**, 2009.

ABUSHUFA, R.; REED, P.; WEINKOVE, C. Fatty acids in erythrocytes measured by isocratic HPLC. **Clinical Chemistry**, v.40, n. 9, p. 1707-12, 1994.

ALIBHAI, S. M. H. et al. A clinical trial of supervised exercise for adult in patients with acute myeloid leukemia (AML) undergoing induction chemotherapy. **Leukemia Research**, v. 36, p. 1255– 1261, 2012.

ALMEIDA, V. L. et al. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**. v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.

ALTENBURG, ET AL. A novel 2,6diisopropylphenyl–docosaheptaenoamide conjugate induces apoptosis in T cell acute lymphoblastic leukemia cell lines. **Biochemical Biophysical Research Communications**, v. 411, p. 427-432, 2011.

ARAB, L. Biomarkers of fat and fatty acid intake. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 925S-32S, 2003.

ARGILES, J. M. Cancer-associated malnutrition. **European Journal of Oncology Nursing**, v. 9, p. S39-50, 2005.

ARTEMBURN, L.M.; HALL, E.B.; OKEN, H. Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, p. 1467S-76S, 2006.

BAIN, J.B. **Diagnóstico em Leucemias**. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2003.

BARACOS, V; MAZURAK, V; MA, D. n-3 Polyunsaturated fatty acids throughout the cancer trajectory: influence on disease incidence, progression, response to therapy and cancer-associated cachexia. **Nutrition Research Reviews**, v.17, p. 177-192, 2004.

BARBER MD, FEARON KC, TISDALE MJ. Fish oil-enriched nutritional supplement attenuates progression of the acute-phase

response in weight-losing patients with advanced pancreatic cancer. **Journal of Nutrition**, v. 129, p. 1120–1125, 1999.

BARBER MD, FEARON KC, TISDALE MJ, MCMILLAN DC, ROSS JÁ. Effect of a fish oil-enriched nutritional supplement on metabolic mediators in patients with pancreatic câncer cachexia. **Nutrition and Cancer**, v. 40, p. 118–124, 2001.

BARBOSA, L. A.; BENARROZ, M. de O.; FAILLACE, G. B. D. Bioética e nutrição em cuidados paliativos oncológicos em adultos. **Caderno de Saúde Pública**, v.25, n. 9, 2009.

BARBOSA-SILVA, M.C.G.; BARROS, A.J.D., Avaliação nutricional subjetiva. Parte 1 – Revisão de sua validade após duas décadas de uso. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 39, 2002.

BARRERA, G. Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. **ISRN Oncology**, 137289, 2012.

BAYRAM, I. et al. The Use of a Protein and Energy Eicosapentaenoic Acid Containing Supplement for Malignancy-Related Weight Loss in Children. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 52 p. 571-574, 2009.

BAXTEE, Y. C., WAITZBERG, D. L. Nutrição oral nas Afecções digestivas cirúrgicas. In: WAITZBERG, D. L. **Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, p. 481-512, 2000.

BAUMGARTNER, M. et al. Enhancement of arsenic trioxide-mediated apoptosis using docosahexaenoic acid in arsenic trioxide-resistant solid tumor cells. **International Journal of Cancer**, v.112, n. 4, p. 707–712, 2004.

BELL RD, KHAN M. Cerebrospinal fluid creatine kinase BB activity: a perspective. **Archives of Neurology**, v.56, p. 1327-8, 1999.

BERTERETCHE, M.V, et al., Decreased taste sensitivity in cancer patients under chemotherapy. **Supportive Care in Cancer**, v. 8, p. 571-6, 2004.

BIERMAN, H.R. et al. Correlation of serum lactic dehydrogenase activity with the clinical status of patients with cancer, lymphomas and the leukemias. **Cancer Research**, v. 12, 1957.

BIONDO, P.D. et al. The potential for treatment with dietary long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids during chemotherapy. **The Journal of nutrition biochemistry**, v. 19, p. 787–796, 2008.

BONATTO, S. J. et al. Fish oil supplementation improves neutrophil function during cancer chemotherapy. **Lipids**, v. 47, n. 4, p. 383-9, 2012.

BREVIGLIERI, R.M.C., CHOAIRY, A.C.C. O Cuidado Multiprofissional do Paciente Onco-Hematológico. In: BIFULCO, Vera Anita; FERNANDES JÚNIOR, Hélio Jadir; BARBOSA, Alessandra Bigal. **Câncer - Uma Visão Multiprofissional**. 1. Ed. São Paulo: Editora Manole Ltda., p. 153-175, 2010.

BRUNNER, A. M.; Association between baseline body mass index and overall survival among patients over age 60 with acute myeloid leucemia. **American Journal of Hematology**, 2013.

BURNS, C. P, et al. Phase I clinical study of fish oil fatty acid capsules for patients with cancer cachexia: cancer and leukemia group B study 9473. **Clinical Cancer Research**, v. 12, p.3942-3947, 1999.

CADENAS, E. Mitochondrial free radical production and cell signaling. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 25, p. 17–26, 2004.

CAIRNS, R. A., HARRIS, I. S., MAK, T. W. Regulation of cancer cell metabolism. **Nature Reviews Cancer**, v. 11, p. 85–95, 2011.

CALDER, P.C. n-3 polyunsaturated fatty acids as pharmacologic agents: a fishy tale? **Nutrition**, EUA, v. 11, n. 11112, p. 1002-1004, 1997.

CALDER, P.C. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polynsaturated fatty acids. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, n. 4, p. 467- 490, 1998.

CALDER, P. C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance. **Biochimica et**

Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, v. 1851, n. 4, p. 469-84, Abr. 2015.

CALDER, P. C. Mechanisms of action of (n-3) fatty acids. **Journal of Nutrition**, v. 142, n. 3, p. 592s-99s, Mar. 2012.

CALDER, P. C. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: New twists in an old tale. **Biochimie**, v. 91, n. 6, p. 791-5, Jun. 2009.

CALDER, P. C. The relationship between the fatty acid composition of immune cells and their function. **Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids**, v. 79, n. 3-5, p. 101-8, Set./Nov. 2008.

CALDER, P. C.; DECKELBAUM, R. J. Omega-3 fatty acids: time to get the messages right! **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 11, n. 2, p. 91-3, Mar. 2008.

CALIXTO-LIMA, L. et al. Dietetic management in gastrointestinal complications from antimalignant chemotherapy. **Nutricion Hospitalaria**, v.27, n. 1, p. 65-75, 2012.

CAPRA, S.; FERGUSON, M.; RIED, K. Cancer: impact of nutrition intervention outcome - **Nutrition issues for patients, nutrition**, v. 17, p. 769-772, 2001.

CASTILLO, J. J. et al. Obesity but not overweight increases the incidence and mortality of leukemia in adults: A meta-analysis of prospective cohort studies **Leukemia Research**, v. 36, p. 868– 875, 2012.

CANTWELL, M. M. Assessment of individual fatty acid intake. **Proceedings of Nutrition Society**, v. 59, n. 2, p. 187-91, 2000.

CECCARELLI et al., An allosteric inhibitor of the human Cdc34 ubiquitin-conjugating enzyme. **The Journal Cell**, v.7, p. 1075-87, 2011.

CERQUEIRA, F. M MEDEIROS, M.H.G; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: Controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHIU, L. C. WONG, E. Y. OOI, V. E. Docosahexaenoic acid modulates different genes in cell cycle and apoptosis to control growth of human leukemia HL60 cells. **International Journal of Oncology**, v. 25, n. 3, p. 737-744, 2004.

CHIU, C. C. et al. The effects of omega-3 fatty acids monotherapy in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a preliminary randomized double-blind placebo-controlled study. **Progress in Neuro-psychopharmacol & Biological Psychiatry**, v. 32, n. 6, p. 1538-44, 2008.

CLEMENTINO, N.D., MURAD, A.M., ROCHA, V.G. Leucemias Crônicas e Distúrbios Mieloproliferativos. In: MURAD, André Márcio; KATZ, Artur. **Oncologia - Bases Clínicas do Tratamento**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, cap. 23, p. 303-311, 1996.

CONKLIN, K. A. Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness. **Integrative Cancer Therapy**, v 3, p. 294-300, 2004.

CORTES, J; KANTARJIAN, H. Advanced-phase chronic myeloid

COSTA, L.J.M., VARELLA, P.C.S., GIGLIO, A. Weight changes during chemotherapy for breast cancer. **Revista Paulista de Medicina**, v. 120, n. 4, p.113-117, 2002.

COSTA, S.S. Manifestações orais da leucemia e protocolo de atendimento odontológico. **Revista ABO Nacional**, v. 18, n. 1, p. 134-138, 2010.

CURI, R *et al.*. Entendendo a gordura: os ácidos graxos. **Manole**: São Paulo, 2002.

CRUZ-MERINO, L. et al., Role of Immune Escape Mechanisms in Hodgkin's Lymphoma Development and Progression: A Whole New World with Therapeutic Implications. **Journal of Immunology Research**, 2012.

BARBOSA, L. A.; BENARROZ, M. de O.; FAILLACE, G. B. D. Bioética e nutrição em cuidados paliativos oncológicos em adultos. **Caderno de Saúde Pública**, v. 25, n. 9, 2009.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p 113-126, 2006.

BARRERA, G. Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. **ISRN Oncology**. 137289, 2012.

BERLETT, BS, STADTMAN, E.R. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, p. 20313-6, 1997.

CHEVION, M.; BERENSHTEIN, E.; STADTMAN, E.R. Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage. **Free Radical Research**, v. 33, p. 99-108, 2000.

DALLE-DONE, I., et al. R..Protein Carbonyl groups as biomarker of oxidative stress. **Clinica Chimica Acta**, v. 329, p. 23-38, 2003.

DAMSGAARD CT, FROKIAER H, LAURITZEN L. The effects of fish oil and high or low linoleic acid intake on fatty acid composition of human peripheral blood mononuclear cells. **British Journal of Nutrition**, v. 99, p. 147-154, 2008.

DAVIES, M. Nutritional screening and assessment in cancer-associated malnutrition. **European Journal of Oncology Nursing**, v. 9, p. 64–73, 2005.

DON BR, KAYSEN G. Serum albumin: relationship to inflammation and nutrition. **Seminars in Dialysis**, v. 17, p. 432-7, 2004.

DIGHIERO, G.; HAMBLIN, T.J. Chronic lymphocytic leukaemia. **Lancet**, v. 371, p. 1017-1029, 2008.

DU CLOS, T.W. Function of C-reactive protein. **Annals of Medicine**, v. 32, p. 274–278, 2000.

FAHRMANN, J.F; HARDMAN, W.E. Omega 3 fatty acids increase the chemo-sensitivity of B-CLL derived cell lines EHEB and MEC-2 and of B-PLL-derived cell line JVM-2 to anti-cancer drugs doxorubicin, vincristine and fludarabine. **Lipids in Health and Disease**, v. 12, n. 1, p. 36, 2013.

FASOLA, G. et al.- Serum LDH concentration in non-Hodgkin's lymphoma: relationship to histologic type, tumor mass and presentation features. **Acta Haematologica**, v.72, p. 231,1984.

FEARON, K.C. et al. Double-blind, placebo-controlled, randomized study of eicosapentaenoic acid diester in patients with cancer cachexia. **Journal Clinical of Oncology**, v.24 p.401–3407, 2006.

FERRARIS, A.M.; GIUNTINI, P. & GAETANI, G.F. -Serum lactic dehydrogenase as a prognostic tool for non-Hodgkin lymphoma. **Blood** , v.54, p. 928,1979.

FINKEL, T., HOLBROOK, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing,. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 239– 247, 2000.

FRANCESCHI, S. Hepatitis C virus and risk of lymphoma and other lymphoid neoplasms: a meta-analysis of epidemiologic studies. **Cancer Epidemiol Biomarkers**, v. 15, p. 2078-2085, 2008.

FREEDMAN, R.J. et al., Weight and body composition changes during and after adjuvant chemotherapy in women with breast cancer. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, n. 5, p. 2248-2253, 2004.

FRISANCHO, A.R. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, p. 2540-2545, 1981.

FRISANCHO, A.R. Antropometric Standards for the assessment of growth and nutrition status. Michigan, USA: **The University of Michigan Press**, p. 195, 1990.

FRITSCHI, L. et al. Dietary Fish Intake and Risk of Leukaemia, Multiple Myeloma, and Non-Hodgkin Lymphoma. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 13, n. 4, p. 532-537, 2004.

GAGO-DOMINGUEZ, M.; CASTEALAO, J.E. Lipid peroxidation and renal cell carcinoma: further supportive evidence and new mechanistic insights. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 4, p. 721-733, 2006.

GARÓFOLO, A; LOPEZ, F.A. Novos conceitos e propostas na assistência nutricional da criança com câncer. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 20 p. 140-146, 2002.

GARÓFOLO, A; PETRILLI, A S. Balanço entre ácidos graxos ômega-3 e 6 na resposta inflamatória em pacientes com câncer e caquexia. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 5, 2004.

GARÓFOLO, A; PETRILLI, A S. Balanço entre ácidos graxos ômega-3 e 6 na resposta inflamatória em pacientes com câncer e caquexia. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 5, 2006.

GLAUS, A. et al. Chemotherapy-induced nausea and vomiting in routine practice: a European perspective. **Supportive Care in Cancer**, v. 12, p. 708–715, 2004.

GLOIRE, G., LEGRAND-POELS, S., PIETTE, J. NF- κ B activation by reactive oxygen species: fifteen years later. **Biochemistry Pharmacology**, v. 72, p. 1493–1505, 2006.

GIANNOULAKI, E.E. et al.- Lactate dehydrogenase isoenzyme pattern in sera of patients with malignant diseases. **Clinical Chemistry**, v. 35, p. 396, 1989.

GIBNEY, M. J.; HUNTER, B. The effects of short- and long-term supplementation with fish oil on the incorporation of n-3 polyunsaturated fatty acids into cells of the immune system in healthy volunteers. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 47, n. 4, p. 255-9, Abr. 1993.

GILLIS, R. C. et al. Eicosapentaenoic acid and γ linolenic acid induce apoptosis in HL60 cells. **Journal of Surgical Research**, v. 107, p. 145-153, 2002.

GIMENEZ , D.L. Quimioterapia. In: Ikemori EHA, Oliveira T, Serralheiro IFD, Shibuya E, Cotrim TH, Trintin LA et al., **Nutrição em oncologia**. 1 ed. São Paulo: lemar; p. 179-88, 2003.

GOLDMAN, R.D.; KAPLAN, N.O. & HALL, T.C.- Lactic dehydrogenase in human neoplastic tissue. **Cancer Research**, v. 24, p. 389, 1964.

GUFFY, M.M, NORTH, J.A., BURNS, C.P. Effect of cellular fatty acid alteration on adriamycin sensitivity in cultured L1210 murine leukemia cells. **Cancer Research**, v. 44, n. 5, p. 1863– 1866, 1984.

GUIMARÃES, L. V.; BARROS, M. B. A. As diferenças de estado nutricional em pré-escolares de rede pública e a transição nutricional. **Jornal de Pediatria, Rio de Janeiro**, v. 77, n. 5, p. 381-386, 2001.

GUPTA, D; LIS, G. C. Pretreatment serum albumin as a predictor of cancer survival: A systematic review of the epidemiological literature. **Nutrition Journal**, v. 9, p. 69-76, 2010.

HAJJAJI, N; BOUGNOUX, P. Selective sensitization of tumors to chemotherapy by marine-derived lipids: a review. **Cancer Treatment Reviews**, v.39 n. 5, p. 473-88, 2012.

HAJJAJI, N; BOUGNOUX, P. Selective sensitization of tumors to chemotherapy by marine-derived lipids: a review. **Cancer Treatman Reviews**, v. 39, n. 5, p. 473-88, 2013.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M.C. Antioxidantes defenses. In: **Free radicals in biology and medicine**. Oxford: Clarenton Press, p.105-245, 1999.

HALLIWELL B, WHITEMAN M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal Pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231-55, 2002.

HALLIWELL B, WHITEMAN M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Jounal Pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231-55, 2004

HAMERSCHLAK N. Leukemia: genetics and prognostic factors. **J Pediatr (Rio J)**, v. 84, n. 4 p. 52-57, 2008.

HARDMAN WE. International Research Conference on Food, Nutrition and Cancer - (n-3) fatty acids and cancer therapy. **Journal of Nutrition**, v. 134, p. 3427–3430, 2004.

HARRIS, S.W. et al., Comparative Effects Of An Acute Dose Of Fish Oil On Omega-3 Fatty Acid Levels in Red Blood Cells Versus Plasma: Implications for Clinical Utility. **Journal of clinical lipidology**, p.1-27, 2013.

HELT, C.E.; RANCOURT, R.C.; STAVERSKY, R.J. p53-dependent induction of p21Cip1/WAF1/Sdi1 protects against oxygen-induced toxicity. **Toxicological Sciences**, v. 63, n. 2, p. 214–222, 2001.

HONG, M.Y., et al. Fish oil contaminated with persistent organic pollutants reduces antioxidant capacity and induces oxidative stress without affecting its capacity to lower lipid concentrations and systemic inflammation in rats. **Journal of Nutrition**, v.145, n.5, p.939-944, 2015.

INGENBLEEK, Y; CARPENTIER, Y.A. A prognostic inflammatory and nutritional index scoring critically ill patients. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, v. 55, p. 91-110, 1985.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, p. 124, 2014.

INSTITUTE OF MEDICINE. Food and Nutrition Board. **Dietary Reference Intakes: for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids**. IOM, p. 1331, 2005.

IVERSEN, P. et al. Impaired nutritional status during intensive chemotherapy in Russian and Norwegian cohorts with acute myeloid Leukemia. **Leukemia & Lymphoma**, v. 49, p. 1916–1924, 2008.

JIANG, W.G.; BRYCE, RP.; HORROBIN, D.F. Essential fatty acids: molecular and cellular basis of their anti-cancer action and clinical implications. **Oncology Hematology**, v. 27, p. 179-209, 1998.

JOHANSSON, S; LONNQVIST, A. OSTMAN, S., SANDBERG, A.S., WOLD, A.E. Longchain polyunsaturated fatty acids are consumed during allergic inflammation and affect T helper type 1 (Th1)- and Th2-mediated hypersensitivity differently. **British Society for Immunology, Clinical and Experimental Immunology**, v. 160, p 411-419, 2010.

JOVANOVIĆ, P.; et al. Lactate Dehydrogenase and oxidative stress activity in primary open-angle glaucoma aqueous humor. **Bosnian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 10, n. 1, p. 83-88, 2010.

KALISH, B, T; FALLON, E, M; PUDER, M. A Tutorial on Fatty Acid Biology, **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 36, p. 380-388, 2012.

KAMIGUTI, A.S., SERRANDER, L., K. LIN, K., et al. Expression and activity of NOX5 in the circulating malignant B cells of hairy cell leukemia. **Journal of Immunology**, v. 175, n. 12, p. 8424–8430, 2005.

KAWANISHI, S. Y., HIRAKU, Y., PINLAOR, Ma, N. Oxidative and nitrate DNA damage in animals and patients with inflammatory diseases in relation to inflammation-related carcinogenesis. **Biological Chemistry**, v. 387, n. 4, p.365– 372, 2006.

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; FAUSTO, Nelson; MITCHELL, Richard N. Robbins **Patologia Básica**. 8a edição. São Paulo: Elsevier Editora Ltda p. 63-67, 187-243, 483-523, 2008.

KENNEDY L AND DIAMOND J. Assessment and management of chemotherapy induced mucositis in children. **Journal of Pediatric Oncology Nursing**, v. 14, p. 167-74, 1997.

KENNETH, R. et al. Increased Body Mass Index Is Associated With Improved Survival in United States Veterans With Diffuse Large B-Cell Lymphoma, **Journal of clinical oncology**, v. 30 n. 26, 2012.

KYLE, U.G., SCHNEIDER, S.M., PIRLICH, M., et al. Does nutritional risk, as assessed by Nutritional Risk Index, increase during hospital stay? A multinational population-based study. **Clinical Nutrition**, v. 24, n. 4, p 516-24, 2005.

LADAS, E.J.; SACKS, N.; MEACHAM, M, et al. A multidisciplinary review of nutrition considerations in the pediatric oncology population: A perspective from Children's Oncology Group. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 20, p 337-93, 2005.

LARSSON, S.C. WOLK, A. Obesity and risk of non-Hodgkin's lymphoma: a meta-analysis. **International Journal of Cancer**, v.121 p.1564-1570, 2007.

LARSSON, S. C; WOLK, A. Overweight and obesity and incidence of leukemia: a meta-analysis of cohort studies. **International Journal of Cancer**, v.6 p.1418-1421, 2008.

LAVIANO, A; MUSCARITOLI, M; ROSSI-FANELLI, F. Phase II study of high-dose fish oil capsules for patients with cancer-related cachexia: a Cancer and Leukemia Group B study. **Cancer**, v. 103, n. 3, p. 651-652, 2005.

LEDUE, T. B. et al. Analytical evaluation of particle-enhanced immunonephelometric assays for C-reactive protein, serum amyloid A and mannose-binding protein in human serum. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 35, p. 745-753, 1998.

LEONARD, S.S, HARRIS, G.K, SHI, X. Metal-induced oxidative stress and signal transduction. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, n. 12, p. 1921-1942, 2004.

LEVINE, A. S.; Siegel, S.E.; Schreiber, A. D.; Hauser, J.; Preisler, H.; Goldstein, I. M; Seidler, F.; Simon, R.; Perry, S.; Bennett, J. E.; Henderson, E. S. Protected Environments and Prophylactic Antibiotics — A Prospective Controlled Study of Their Utility in the Therapy of Acute Leukemia. **New England Journal Medical**, v. 288, p. 477-483, 1973.

LEVINE, A.S., et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Method Enzymol**, v. 186, p. 464-478, 1990.

LEVINE, A.S., Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 9, p. 790-6, 2002.

LITTLE, James W.; FALACE, Donald A.; MILLER, Craig S.; RHODUS, Nelson L. **Manejo Odontológico do Paciente Clinicamente Comprometido**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, p. 359-379, 2009.

LIS C. G. et al. Role of nutritional status in predicting quality of life outcomes in cancer – A systematic review of the epidemiological literature. **Nutrition journal**. 11:27 doi:10.1186/1475-2891-11-27, 2012. Disponível em: < <http://www.nutritionj.com/content/11/1/27>> Acesso em: 15 junho 2014.

LBNER, D. Comparison of the LDH and MTT assays for quantifying cell death: validity for neuronal apoptosis?. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 2, p. 147-53, 2000.

LUPU L, et al. Reliability of clinical judgement in evaluation of the nutritional status of surgical patients. **British Journal of Surgery**, v. 80, p. 1553–1556, 1993.

MACINNIS, R.J., ENGLISH, D.R., HOPPER, J.L., et al. Body Size and Composition and the Risk of Lymphohematopoietic Malignancies. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 97, p. 1154–1157, 2005.

MANI, et al. Machine learning of temporal relations. **In Proceedings of the 44th Annual Meeting of the Association for Computational Linguistics**, Sydney. ACL, 2006.

MALIHI, Z., et al. Nutritional status and quality of life in patients with acute leukaemia prior to and after induction chemotherapy in three hospitals in Tehran, Iran: a prospective study. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, p.1-9, 2013.

MARTINDALE, J.L., HOLBROOK, N.J. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival, **Journal of Cellular Physiology**, v 192, n 1, p 1–15, 2002.

McKENZIE, S.B. Advances in understanding the biology and genetics of acute myelocytic leukemia. **Clinical Laboratory Science**, v. 18, p. 28-37, 2005.

MEDEIROS, B. C. et al. Impact of body-mass index on the outcome of adult patients with acute myeloid leukemia. **Haematologica**, v.9, p. 97, 2012.

MERENDINO, N. et al. Dietary ω -3 Polyunsaturated Fatty Acid DHA: A Potential Adjuvant in the Treatment of Cancer. **Biomed Research International**, 2013.

MICHAEL, R.; BRON, A.J. The ageing lens and cataract: a model of normal and pathological ageing. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 1568, p. 1278-92, 2011.

MOCELLIN, M, et al., Fish Oil Decreases C-Reactive Protein/Albumin Ratio Improving Nutritional Prognosis and Plasma Fatty Acid Profile in Colorectal Cancer Patients. **Lipids**. V. 48, p. 879-888, 2013.

MOLASSIOTISM, A. et al. A prospective observational study of chemotherapy-induced nausea and vomiting in routine practice in a UK cancer centre. **Supportive Care in Cancer**, v. 16, p. 201–208, 2008.

MORABITO, F., et al., Lipid peroxidation and protein oxidation in patients affected by Hodgkin's lymphoma Mediators of Inflammation, v. 13, 2004.

MOUNTER, P. J.; LENNARD, A. L. Management of non-Hodgkin's Lymphomas. The Fellowship of Postgraduate Medicine. n. 75, p. 2–6, 1999;

MURPHY, R. A. et al. Supplementation With Fish Oil Increases First-Line Chemotherapy Efficacy in Patients With Advanced Nonsmall Cell Lung Cancer. **Cancer**, v. 117, p. 3774–3780, 2011.

NATIONAL CANCER INSTITUTE – NCI. **Cancer Topics – Leukemia**. Estados Unidos da América: NCI, 2013. Disponível em: <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/leukemia>. Acesso em: dezembro, 2013.

NISHIYAMA-NARUKE et al. HPLC Determination of Underivatized Fatty Acids Saponified at 37°C Analysis of Fatty Acids in Oils and Tissues. **Analytical Letters**, v. 31, 1998.

NOGAI, H.; DORKEN, B.; LENZ, G. Pathogenesis of non-Hodgkin's lymphoma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 14, p. 10-29, 2011.

OGILVIE, G. K. et al. Effect of fish oil, arginine, and doxorubicin chemotherapy on remission and survival time for dogs with lymphoma: A doubleblind, randomized placebocontrolled study. **Cancer**, v. 88, p. 1916-1928, 2000.

OLIVEIRA, B.M.; DINIZ, M. S.; VIANA, M. B. Leucemias agudas na infância. **Revista Médica**, v. 14, n. 1, p. S33-S39, 2004.

OLIVEIRA, S. G.; SIMAS, J. M. C.; SANTOS, F. A. P. principais aspectos relacionados às alterações no perfil de ácidos graxos na gordura do leite de ruminantes. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, p. 73-80, 2004.

PALMA, A.G.C.; ROSA, G. Avaliação Nutricional do Paciente Hospitalizado – desafios e limitações na prática clínica. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 20, n. 3, p. 164-73, 2005.

PANTKE, U. et al. Oxidized proteins as a marker of oxidative stress during coronary heart surgery. **Free Radicals Biology Medicine**, v. 27, p. 1080–1086, 1999.

PAROLA, M., BELLOMO, G., ROBINO, G., BARRERA, G., DIANZANI, M.U. 4-Hydroxynonenal as a biological signal: molecular basis and pathophysiological implications. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 1, n. 3, p. 255–284, 1999.

PEREIRA, J. et al. Papel da célula endotelial em neoplasias hematológicas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, n.3, p. 223-228, 2008.

PIETTA, P.G., Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PIGNATELLI B, Li CQ, BOFFETTA, P. , CHEN, Q., AHRENS, W., NYBERG, F., et al. Nitrated and oxidized protein in smokers and lung cancer patients. **Cancer Research**, v.. 61, p 778-784, 2001.

PISBARRO, R. Nutrigenética y Nutrigenómica: la revolución sanitaria del Nuevo milenio. Implicancias clínicas en síndrome metabólico y diabetes mellitus 2. **Revista Médica del Uruguay**, v. 22, p. 100-1007, 2006.

POLLOCK, R.E. et al. **Manual de Oncologia Clínica da UICC**. 8ª Ed. São Paulo: Fundação Oncocentro de São Paulo, p. 919, 2006.

POPADIUK, S., at al. Carbonyl group content on the basis of protein peroxidation analysis with total antioxidant status in blood of children with cancers. **Wiad Lek**, v. 51, p. 107-112, 1998.

POPPITT, S.D., et al. Assessment of erythrocyte phospholipid fatty acid composition as a biomarker for dietary MUFA, PUFA or saturated fatty acid intake in a controlled cross-over intervention trial, **Lipids in Health and Disease**, v. 4, p. 30, 2005.

PUI, C.H. et al.- Serum lactic dehydrogenase level has prognostic value in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, v. 66, p. 778, 1985.

PUI, C.H.; JEHA, S. New therapeutic strategies for the treatment of acute lymphoblastic leukaemia. **Nature Reviews**, v. 6, p.149-165, 2007.

PUI, C.H.; ROBISON, L.L.; LOOK, A.T. Acute lymphoblastic leukaemia. **Lancet**, v. 371, p. 1030-1043, 2008.

RANZANI, O.T, et al. C-Reactive Protein/Albumin Ratio Predicts 90-Day Mortality of Septic Patients. **Plos one**, v. 8, n. 3, 2013.

RAVASCO, P.; et al. Nutritional deterioration in cancer: the role of disease and diet. **Clinical Oncology**, v. 15, p. 443-450, 2003.

RAATZ, S.K. Dose-dependent consumption of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) increases plasma phospholipid n-3 fatty acids differentially. **Journal academy of nutrition and dietetics**, v. 2, p. 282-7, 2013.

READ, J. A. et al. Nutrition intervention using an eicosapentaenoic acid (EPA)-containing supplement in patients with advanced colorectal cancer. Effects on nutritional and inflammatory status: a phase II trial. **Supportive Care in Cancer**, v. 15, n. 3, p. 301-7, 2007.

REUTER, S., et al., 2010 Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? **Cytokine Research**, 2010.

ROYNETTE, C.E., et al. n-3 Polyunsaturated fatty acids and colon cancer prevention. **Clinical Nutrition**, p. 1-13, 2003.

ROXBURGH, C.S.D., et al. Comparison of tumourbased (Peterson Index) and inflammation-based (Glasgow Prognostic Score) scoring in patients undergoing curative resection for colon cancer. **British Journal of Cancer**, v. 100, p. 701 – 706, 2009.

ROXBURGH, C.S, MCMILLAN, D.C. Role of systemic inflammatory response in predicting survival in patients with primary operable cancer. **Future Oncology**, v. 6, p. 149 – 163, 2010.

RUXTON, C.H.S., et al. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 20, p. 275-285, 2007.

SABBAGA, Jorge; SANCHES, Solange Moraes. Leucemia Linfoblástica. In: MURAD, André Márcio; KATZ, Artur. **Oncologia - Bases Clínicas do Tratamento**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, cap. 22, p. 297-302, 1996.

SALCES, M.M, PAZ, R., HERNÁNDEZ-NAVARRO, F. Recomendaciones nutricionales en el paciente oncohematológico. **Nutricion Hospitalaria**, v. 21, n. 3, p. 379-85, 2006.

SALVAYRE, A. et al. Pathological aspects of lipid peroxidation. **Free Radical Research**, v. 44, n. 10, p. 1125–1171, 2010.

SERMIN, U. FIKRIYE, Y. TURAY Protein oxidation: basic view on characterization, detection and consequences **Advances in Molecular Medicine**, v. 3, p. 63–67, 2007.

SCHNEIDER, S.M., et al. Malnutrition is an independent factor associated with nosocomial infections. **British Journal of Nutrition**, v. 92, n. 1 p. 105-11. 21, 2004.

SHENBERGER, D. Oxygen induces S-phase growth arrest and increases p53 and p21WAF1/CIP1 expression in human bronchial smooth-muscle cells. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, v. 21, n. 3, p. 395–402, 1999.

STADTMAN, E. R.; LEVINE, R. L. Protein Oxidation. **The New York Academy of Sciences**, v. 899, p. 191-208, 2000.

SZATROWSKI, T.P., NATHAN, C.F. Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells. **Cancer Research**, v. 51, n. 3, p. 794–798, 1991.

SIDDIQUI, I.A.; EHETSHAMUL-HAQUE, S.; SHAUKAT, S.S; Use of rhizobacteria in the control of root rot-root knot disease complex of mungbean. **Journal of Phytopathology**, v. 149, p. 337–346, 2001.

SIMON, H.U., HAJ-YEHIA, A., LEVI-SCHAFFER, F. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. **Apoptosis**, v. 5, n. 5, p. 415–418, 2000.

SOSA, V., et al. Oxidative stress and cancer: An overview. **Ageing Research Reviews**, v. 12, n. 1, p. 376-390, 2013.

TISDALE, M. J. Pathogenesis of cancer cachexia. **Journal Supportive Oncology**, v. 1, n.3, p. 159-168, 2003.

THÉRON, P., et al. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 3, p. 373, 2000.

TSUNG, S.H. Creatine Kinase activity and isoenzyme pattern in various normal tissues and neoplasms. **Clinical Chemistry**, v. 29, p. 2040, 1983.

TRETTET, L.; ADAM-VIZI, V. Inhibition of Krebs' cycle enzymes by hydrogen peroxide: a key role of α -ketoglutarate dehydrogenase in limiting NADH production under oxidative stress. **The Journal of Neuroscience**, v. 20, p. 8972-8979, 2000.

SIDDIQUI, R.A; HARVEY, K.A; ZALOGA, G.P. Modulation of Lipid Rafts by omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Cancer: Implications for Use of Lipids During Nutritional Support. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 22, p. 74-88, 2007.

SILVA, J. A. et al. Fish oil supplement alters markers of inflammatory and nutritional status in colorectal cancer patients. **Nutrition and Cancer**, v. 64, n. 2, p. 267-73, 2012.

SIMON, H.U, HAJ-YEHIA, A., LEVI-SCHAFFER, F. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. **Apoptosis**, v. 5, n. 5, p. 415–418, 2000.

STORZ, P. Reactive oxygen species in tumor progression. **Frontiers in Bioscience**, v. 10, n. 2, p. 1881–1896, 2005.

STURLAN, S., et al. Docosahexaenoic acid enhances arsenic trioxide-mediated apoptosis in arsenic trioxide-resistant HL-60 cells. **Blood**, v. 101, p. 4990–4997, 2003.

SZENT-GYORGYI A, ISENBERG I, BAIRD SL. On the electron donating properties of carcinogens. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.46, p. 1444 – 1449, 1960.

VAN DER MEIJ, B. S. et al. Oral nutritional supplements containing n-3 polyunsaturated fatty acids affect quality of life and functional status in lung cancer patients during multimodality treatment: an RCT. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 66 p. 399–404, 2012.

VALKO M, MORRIS H, CRONNIN MTD. Metals, toxicity and oxidative stress. **Current Medical Chemistry**, v. 12, p. 1161–208, 2005.

VASCONCELOS, S.M.L. et al. Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, p. 1323-1338, 2007.

VAUGHAN, V. C; M. R. HASSING; P. A. LEWANDOWSKI. Marine polyunsaturated fatty acids and cancer therapy, **British Journal of Cancer**, p. 1-7, 2013.

VENKATARAMAN, P.;KRISHNAMOORTHY, G.; SELVAKUMAR, K.; ARUNAKARAN, J. Oxidative stress alters creatine kinase system in serum and brain regions of polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254)-exposed rats: protective role of melatonin. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 105, n. 2, p. 92-97, 2009.

VISIOLI, F.; KEANEY Jr., J. F.; HALLIWELL, B.; **Cardiovascular Research**. V. 47, p. 409, 2000.

WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, p. 211-222, 2000.

WESTGARD, J. O; BARRY, P. L; HUNT, R; GROTH, T. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. **Clinical Chemistry**, v. 27, p. 493-501, 1981.

WHO. World Health Organization. Cancer. Disponível em: < <http://www.who.int/cancer/en/> >. 2015. Acessado em: 19/01/2015.

WHO. World Health Organization. Technical Report, nº. 916. **Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Disease**. Geneva: WHO, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. BMI classification. Geneva, Switzerland. **WHO**, 2008.

WIDTH, M; REINHARD, T. The clinical dietitian's essential pocket guide. **Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins**, 2009.

YAMAGAMI, T. et al. Docosahexaenoic acid induces dose dependent cell death in an early undifferentiated subtype of acute myeloid leukemia cell line. **Cancer Biology & Therapy**, v. 4, n. 8, p. 331-337, 2009.

YAMAMOTO, M. et al. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 27, n. 4, p. 229-232, 2005.

YILMAZ, H.R., et al. The effects of n-3 polyunsaturated fatty acids by gavage on some metabolic enzymes of rat liver. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids.**, v.71, n.2, p.131-135, 2004.

YU, P.B. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiological Reviews**, v. 74, n. 1, p. 139-62, 1994.

YUEN, D. M.; FUNG, G. C.; Supplements for immune enhancement in hematologic malignancies. **Hematology**, p. 313-319, 2009.

ZHOU, Y., et al. Free radical stress in chronic lymphocytic leukemia cells and its role in cellular sensitivity to ROS-generating anticancer agents. **Blood**, v. 101, n. 10, p. 4098-4104, 2003.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar, como voluntário, numa pesquisa científica resultante de parceria entre a Universidade Federal de Santa Catarina e o Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago (HU). Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado (a) de forma alguma. Se tiver alguma dúvida procure o Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas (LIDoC) no Departamento de Ciências Fisiológicas (CFS) do Centro de Ciências Biológicas (CCB) no Campus Trindade (Florianópolis-SC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

1.Instituição sede da pesquisa: Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas (LIDoC) no Departamento de Ciências Fisiológicas (CFS) do Centro de Ciências Biológicas (CCB) no Campus Trindade (Florianópolis-SC) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) telefone fixo (48) 3721-2289.

2.Título do projeto: *Impacto da suplementação oral com óleo de peixe sobre a concentração de citocinas e proporção de populações linfocitárias no sangue periférico de pacientes com neoplasias hematológicas malignas em tratamento quimioterápico.*

3.Pesquisador responsável: Prof. Dr. Everson Araújo Nunes

4.Garantia de informação e desistência: Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios.

5.Descrição do estudo: A pesquisa acontecerá no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago localizado no Campus Universitário, bairro Trindade no município de Florianópolis, estado de Santa Catarina. Serão convidados a participar do estudo indivíduos com diagnóstico de neoplasias hematológicas malignas, que tenham indicação de iniciar tratamento quimioterápico na referida instituição hospitalar. O objetivo do presente estudo é avaliar o estado nutricional e marcadores sanguíneos em pessoas que ingeriram ou não cápsulas de óleo de peixe durante nove semanas de tratamento. Os indivíduos serão avaliados apenas por profissionais da saúde (médicos, nutricionistas, enfermeiros, etc.) devidamente treinados e vinculados às instituições parceiras. Haverá contatos telefônicos com os pacientes uma vez por semana, a fim de acompanhar as variáveis do período. Para avaliar o estado nutricional serão feitas mensurações como: peso, altura, circunferência do braço, dobras cutâneas e questionários sobre sua alimentação e resposta ao tratamento. Estas avaliações comentadas serão realizadas em 3 momentos: imediatamente antes de iniciar a quimioterapia, na quarta ou quinta semana após a primeira sessão de quimioterapia e nove semanas após a primeira sessão de quimioterapia. No primeiro e no terceiro momento será necessário que você forneça 20mL de sangue (totalizando 40mL na soma dos dois momentos) que serão coletados pela própria equipe do HU. Estas amostras de sangue deverão ser coletadas em tubos de tampa verde e serão usadas para dosagem de substâncias e células que servirão de indicadores para os possíveis efeitos do óleo de peixe. Do sangue serão avaliados a quantidade de células chamadas linfócitos (Th1, Th2, Th17, Treg) e as quantidades de substâncias usam para se comunicar chamdas citocitas (como: IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN-gama e TNF). Também serão avalidas as quantidades de lipídeos existentes em suas células. Amostras de seu sangue e células ficarão armazenadas em freezer na UFSC por período máximo de 12 meses para realização das dosagens. Posteriormente a este período, qualquer amostra ou derivado será descartado de maneira apropriada em lixo biológico hospitalar. Os participantes serão distribuídos em dois grupos (suplementado e não suplementado), sendo que os pacientes do grupo suplementado serão orientados a ingerir suplemento nutricional de óleo de peixe ao longo de nove semanas na quantidade diária de 2 g. A distribuição dos voluntários para um dos dois grupos será realizada por sorteio e você não pode escolher qual dos grupos quer compor. Ainda existe dúvida se é necessário ou não recomendar óleo de peixe durante o tratamento

quimioterápico, assim o resultado da pesquisa pode trazer informação importante para pessoas submetidas a quimioterapia

6.Coleta de amostra, riscos e desconfortos: Sua principal colaboração para o estudo será possibilitando a realização de medidas, respondendo perguntas, além de fornecer 40 mL (quarenta mililitros) de sangue venoso. O correspondente a quatro tubos próprios para coleta a vácuo de 10mL. O sangue será coletado de veias do seu braço (esquerdo ou direito) com o auxílio de tubos e agulhas próprios para isso por profissional treinado e habilitado. É importante colocar que durante a coleta de sangue pode existir certo desconforto decorrente da penetração da agulha e/ou punção do sangue venoso. Adicionalmente, em casos raros, o local perfurado pela agulha pode apresentar formação de hematoma e sensação de dor quando pressionado nas horas e/ou dias após a coleta. *Importante: Se você for alérgico a peixe e derivados de peixe, NÃO aceite participar do estudo.* Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução nº. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.

7.Benefícios: Ao participar desta pesquisa você não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo contribua com informações e elementos importantes à literatura científica e a prática clínica, onde o pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos (mantendo sua identidade sobre sigilo). Os resultados podem trazer benefícios a todos os seres humanos envolvidos em quimioterapia no futuro.

8.Custos: O estudo não prevê custos aos sujeitos, pois os procedimentos serão realizados na própria instituição onde realizam tratamento da enfermidade e as cápsulas (para quem fizer uso) de óleo de peixe serão fornecidas gratuitamente pelos pesquisadores.

9.Esclarecimentos e dúvidas: A participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional. Qualquer dúvida a respeito da pesquisa, desde os objetivos, metodologias aplicadas, resultados ou envolvendo sua própria participação podem ser sanadas pelos seguintes meios: telefone fixo (48)

3721-2289; telefone celular (48) 9177-7278, e-mail: everson.nunes@ufsc.br com Prof. Dr. Everson A. Nunes

Os pesquisadores irão tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa serão enviados para você, se requisitado, e permanecerão confidenciais. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você **não** será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada no Laboratório de Investigação de Doenças Crônicas (CFS/CCB-UFSC) e outra cópia será fornecida a você.

Prof. Dr. Everson Araújo Nunes

(Pesquisador responsável)

Prof Dr. Everson A. Nunes
CFS – CCB – UFSC
Siape: 1817408 – Mat. 1777126

APÊNDICE B – Orientações e Registro do Consumo das Cápsulas de Óleo de Peixe

Orientações e Registro do Consumo das Cápsulas de Óleo de Peixe

As cápsulas de óleo de peixe deverão ser ingeridas no total de 2 unidades ao dia, imediatamente antes da (s) principal (ais) refeição (ões). Ou seja, pode-se optar entre:

() Consumir 2 cápsulas antes do almoço

() Consumir 1 cápsulas antes do almoço + 1 cápsulas antes do jantar

() Consumir 1 cápsula antes do café-da-manhã + 1 cápsulas antes do almoço

Lembre-se: efetuar o registro da ingestão das cápsulas diariamente e registrar qualquer reação que venha a apresentar.

Data do início da suplementação: / / .					
CÁPSULAS					REAÇÃO/ OBSERVAÇÃO
Dia 1					
Dia 2					
Dia 3					
Dia 4					
Dia 5					
Dia 6					
Dia 7					
Dia 8					
Dia 9					
Dia 10					
Com seguimento de registro até o dia 63.					

APÊNDICE C – Formulário para Coleta de Dados

I – IDENTIFICAÇÃO

Nº prontuário HU: _____ Nº identificação na pesquisa:

Suplementação: Sim ____ Não ____

Nome:		
Sexo:	Data de nascimento:	Cor da pele:
Telefones:		
E-mail:		
Procedência/Endereço		

Diagnóstico/Localização:

Estadiamento:

Comorbidades/ Doenças prévias:

ProtocoloQT:

Outros fármacos utilizados:

Tabagista: () Sim () Não

Nº cigarros/dia: _____

Consumo de bebida alcoólica (quantidade/ frequência):

Prática de atividade física (tempo/ frequência):

Tem hábito de comer
peixe: _____

Quantas vezes na
semana: _____

II – AVALIAÇÃO SUBJETIVA (T0)

<input type="checkbox"/> Disfagia/Odinofagia	<input type="checkbox"/> Perda apetite/anorexia	<input type="checkbox"/> Edema
<input type="checkbox"/> Boca seca	<input type="checkbox"/> Aumento apetite	<input type="checkbox"/> Distensão abdominal
<input type="checkbox"/> Dific. mastigação	<input type="checkbox"/> Náuseas	<input type="checkbox"/> Dor abdominal
<input type="checkbox"/> Mucosite	<input type="checkbox"/> Vômito	<input type="checkbox"/> Diarréia
<input type="checkbox"/> Pirose(queimação)	<input type="checkbox"/> Alteração paladar	<input type="checkbox"/> Constipação

Capacidade funcional física (+ de duas semanas):

<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Abaixo do normal	<input type="checkbox"/> Acamado
---------------------------------	---	----------------------------------

IV – AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA (T0):

Altura:	P. Atual:	IMC:
Classificação IMC:		
P. Usual:	% PP:	Tempo PP:
Classificação Perda de Peso:		
CB:	CB%:	Classificação CB%:
DCT:	DCT%:	Classificação DCT%:
CMB:	CMB%:	Classificação CMB:

VIII – AVALIAÇÃO SUBJETIVA (T1):

<input type="checkbox"/> Disfagia/Odinofagia	<input type="checkbox"/> Perda apetite/anorexia	<input type="checkbox"/> Edema
<input type="checkbox"/> Boca seca	<input type="checkbox"/> Aumento apetite	<input type="checkbox"/> Distensão abdominal
<input type="checkbox"/> Dific. mastigação	<input type="checkbox"/> Náuseas	<input type="checkbox"/> Dor abdominal
<input type="checkbox"/> Mucosite	<input type="checkbox"/> Vômito	<input type="checkbox"/> Diarréia
<input type="checkbox"/> Pirose (queimação)	<input type="checkbox"/> Alteração paladar	<input type="checkbox"/> Constipação

Capacidade funcional física (+ de duas semanas):

<input type="checkbox"/> Normal	<input type="checkbox"/> Abaixo do normal	<input type="checkbox"/> Acamado
---------------------------------	---	----------------------------------

IX – AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA (T1):

Altura:	P. Atual:	IMC:
Classificação IMC:		

P. Usual:		%PP:	Tempo PP:
Classificação Perda de Peso:			
CB:	CB%:	Classificação CB%:	
DCT:	DCT%:	Classificação DCT%:	
CMB:	CMB%:	Classificação CMB:	

APÊNDICE D – Nota de imprensa

IMPACTO DA SUPLEMENTAÇÃO ORAL COM ÓLEO DE PEIXE SOBRE ESTADO NUTRICIONAL, CARBONILAÇÃO PROTEICA E MARCADORES DE LESÃO CELULAR PLASMÁTICOS DE INDIVÍDUOS COM NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS EM TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO

Estudo desenvolvido junto ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) pela mestrandia Caroline Cavali Rohenkohl sob a orientação do Prof. Dr. Everson Araújo Nunes, com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Participaram desse estudo 14 indivíduos com diagnóstico recente de neoplasias hematológicas atendidos no Hospital Universitário de Santa Catarina e que estavam aptos a iniciar o tratamento quimioterápico. Neoplasias hematológicas são cânceres que se iniciam em tecidos produtores de células sanguíneas e no sistema linfático, sendo representadas principalmente pelas leucemias e linfomas. Ambos são caracterizados por células sanguíneas que são responsáveis na defesa do organismo humano contra infecções e que estão anormais desempenhando funções alteradas. Os indivíduos diagnosticados geralmente apresentam deterioração do estado nutricional em decorrência da doença e do tratamento quimioterápico, assim como, podem apresentar condições alteradas de estresse oxidativo. Alguns estudos sugerem a utilização dos ácidos graxos poli-insaturados docosahexaenóico (DHA) e eicosapentaenoico (EPA) como suplemento alimentar adjuvante ao tratamento quimioterápico, por possuírem potencial efeito na melhora ou manutenção do estado nutricional e na maior eficácia da quimioterapia. Estes ácidos graxos podem ser encontrados no óleo de peixe. Assim, este estudo objetivou avaliar o impacto da suplementação com 2 g/dia de óleo de peixe, durante nove semanas, sobre estado nutricional, carbonilação proteica (marcador de estresse oxidativo) e marcadores de lesão celular plasmáticos. Não existiram alterações perceptivas nos parâmetros avaliados pelos pesquisadores. Mais estudos serão necessários para demonstrar potenciais benefícios da ingestão do óleo de peixe durante a quimioterapia nestes pacientes. Mais informações podem ser solicitadas pelos e-mails carolcavali@hotmail.com ou everson.nunes@ufsc.br.